C.S.A.T

Ano 1944

Tomo 40

Fascículo 2

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Brasil

1944
IMPRENSA NACIONAL
RIO DE JANEIRO — BRASIL

ÍNDICE

Tomo 40 Abril, 1944 Fasciculo 2

ARAGÃO, HENRIQUE — Necrológio do Dr. José de Castro Teixeira ..... I-VI

TRAVASSOS, LAURO — Relatório da excursão do Instituto Oswaldo Cruz ao Município de Santa Teresa, no Estado do Espírito Santo, em agôsto e setembro de 1943 121-128

OLIVEIRA, LEJEUNE PACHECO HENRIQUES DE — Estudos higiênicos sôbre os crustáceos e moluscos da Baía de Guanabara (Rio de Janeiro) 129-181

LINHARES, HERMÍNIO — Estudo sôbre a célula leprosa do rato 183-189

DIAS, EMMANUEL — Não receptividade do pombo doméstico à infecção por *Schizotrypanum* 191-194

DA CUNHA, A. M., ARÊA-LEÃO, A. E., GUIMARÃES, F. NERY E CARDOSO, HUMBERTO T. — Ensaios terapêuticos com penicilina. I — Bouba (Framboesia, Pian, Yaws) 195-200

JANSEN, GETH — Sôbre a validade do *Australorbis centimetralis* (Lutz, 1918). Nota prévia 201-208

As **MEMÓRIAS,** orgão oficial do Instituto Oswaldo Cruz, editadas sob a direção do Dr. H. C. de Souza-Araujo, são reservadas, exclusivamente, à publicação de trabalhos nele realizados, e aparecerão em fascículos bimensais ou trimensais.

Toda a correspondência deverá ser dirigida à:

REDAÇÃO DAS MEMÓRIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ
CAIXA POSTAL 926 — ENDEREÇO TELEGRÁFICO: "MANGUINHOS", RIO
RIO DE JANEIRO — BRASIL

Dr. José de Castro Teixeira

N. em 4-I-1906 e F. em 15-II-1944

Dr. José de Castro Teixeira

Chefe da Divisão de Vírus do Instituto Oswaldo Cruz

Manguinhos que tem sido tão rudemente golpeado, nestes últimos anos, com a perda de alguns dos seus mais destacados elementos, vê, bem triste, desaparecer agora mais um companheiro muito querido e admirado, levado por um destino implacável nos seus desígnios que o fêz tombar bem traiçoeiramente, privando sua equipe de um dos mais brilhantes e realizadores componentes, deixando nela um grande vazio e nos corações dos que ficaram uma saudade imorredoura.

Com a morte do Dr. José de Castro Teixeira, perde o Instituto Oswaldo Cruz um dos seus melhores e mais leais servidores, grande amigo da instituição e sobremodo honrado em pertencer a ela, condições estas primaciais para bem servi-la. E isso ele o fez com a mais absoluta dedicação durante cêrca de 18 anos, dando a Manguinhos, para engrandecê-lo, a totalidade das energias de sua vida e os primores de uma inteligência culta, arguta e realizadora, conjugados ainda êsses dotes tão preciosos, aos de um coração bonissimo e aos de um caráter sem jaça. Essas excepcionais qualidades reunidas pròdigamente na personalidade de Castro Teixeira e os seus vastos conhecimentos especializados o credenciaram bem cedo para a chefia de um dos mais importantes setores do nosso Instituto, o de Vírus, ao qual deu uma estrutura material perfeita e uma eficiência de atividade excepcional e consagradora da sua capacidade de direção e organização.

José de Castro Teixeira ingressou em Manguinhos, muito jovem, como estudante e ainda mal egresso da adolescência, mas no seu todo um tanto franzino naquela época, já faziam o mais auspicioso contraste, a sua extraordinária capacidade para o trabalho, o amor pelo estudo e o grande entusiasmo que tinha pelas ciências biológicas, qualidades estas que, desde logo, o marcaram para vir a ser, algum dia, membro integrante da nossa família.

Educado nos nossos moldes, sob as vistas tutelares de Carlos Chagas, Eurico Vilela e Álvaro Lôbo, no antigo Hospital Oswaldo Cruz, ele aí revelou, a um só tempo, excelentes qualidades para a clínica e para a investigação científica; porem foi para esta que finalmente orientou sua vida, levado por decisivos pendores que o conduziram bem depressa a ingressar oficialmente na nossa grei, com o voto perpétuo de bem servir a Manguinhos o que êle cumpriu fielmente trabalhando continuadamente sem olhar canseiras nem

vigílias, e sempre muito indiferente aos sofrimentos físicos. Ao tempo que cuidou de clínica alcançou fàcilmente a docência da Cadeira de Moléstias Tropicais da nossa Faculdade e foi assistente muito apreciado dos Professores Carlos Chagas e Moreira da Fonseca.

Em Manguinhos, porém, Teixeira dedicou-se inteiramente ao estudo dos vírus, tornando-se em breve, reputado especialista nesse difícil capítulo da patologia, no qual adquiriu grande e merecido conceito nos meios científicos nacionais e estrangeiros, especialmente na América do Norte, onde fêz longo estágio nos laboratórios da Fundação Rockefeller.

Seu decidido penhor pelos vírus o aproximou naturalmente de quem já havia cuidado do assunto nos tempos distantes e ainda incertos dêsse hoje tão importante capítulo das ciências biológicas. Tornou-se-me assim possível apreciar cada vez mais, através de um contato quase diário, os seus preciosos dotes morais e intelectuais, sua profunda cultura e essa argúcia tão precisa com que êle sabia solucionar os problemas que o defrontavam no campo científico o que tão bem caracteriza um verdadeiro pesquisador. Mais do que palavras dão prova do seu alto valor tudo o que realizou, em praso curto, com completo sucesso, tanto no campo científico como na organização modelar que deu a Divisão que, tão merecidamente, chefiava no Instituto.

Pelo muito que fêz no transcurso limitado da sua vida, o nome de José de Castro Teixeira ficará consagrado para sempre como um dos mais brilhantes e representativos da nossa escola a qual êle serviu constantemente com um amor e dedicação dificilmente igualáveis, enquanto suas fôrças o permitiram. Êle parecia ter o pressentimento de que sua existência não seria longa e punha em tudo o que fazia uma surpreendente rapidez, própria de quem tem pouco tempo diante de si para realizar um extenso programa. E tudo lhe saíu sempre das mãos perfeito e acabado tanto no que dizia respeito a organização da sua Divisão como no terreno científico.

A contribuição brasileira para o conhecimento dos vírus deve a José de Castro Teixeira uma série de descobertas, atualmente clássicas, entre as quais avultam as relativas à febre amarela, ao alastrim, a varíola, a varicela, ao sarmpo e à gripe, sendo êste o derradeiro assunto em que trabalhou com a sua habitual maestria, isolando os vírus causadores da doença no nosso país e estudando suas características.

Os últimos dias de sua atividade em Manguinhos foram todos consagrados à completa remodelação das instalações do laboratório de preparo de vacina anti-variólica e aos trabalhos preliminares para obtenção da vacina contra a gripe; mas ao fim dêsse período de faina intensa e preocupações variadas, êle já não podia esconder o sofrimento que o abatia cada vez mais, mas ninguém suspeitava que seu mal fôsse irremediável. Não raro, chegava

a minha sala um pouco cansado, pálido, com o rosto a porejar suor e, a uma observação amiga para que tomasse descanso e cuidasse mais da saúde, logo redarguia que tudo aquilo era proveniente de ter andado um pouco aceleradamente ou haver subido as escadarias do Instituto, desprezando o elevador, que acoimava de lento. Acrescentava que melhoraria certamente com regimes e medicações a que se submetia no momento; mas, na realidade, êle estava procurando iludir-se a si mesmo e aos amigos com o único desejo de não abandonar seu pôsto, mais do que nunca cheio de árduas responsabilidades com as quais fazia questão de arcar integralmente, na certeza absoluta de que as venceria.

Ainda aqui, nesse transe final da sua existência, foi José de Castro Teixeira bem do padrão dos grandes de Manguinhos e um fiel depositário das nossas imorredouras tradições. Da mesma forma que Gaspar Viana, Oswaldo, Ezequiel, Chagas, Costa Cruz, Evandro, Lutz, Fontes, Neiva e tantos outros dedicados servidores da nossa escola, êle continuou sua marcha para a frente, estòicamente indiferente ao sofrimento físico que o ia deprimindo cada dia um pouco mais. Enquanto pôde desprezou a morte que o espreitava e num supremo e denodado esfôrço, se manteve firme na nossa linha de frente, batalhando até os derradeiros instantes da sua vida, tão profícua, pelos ideais que nos animam, conduzido pela fé inabalável que todos nós depositamos na ciência ao serviço da humanidade. A vida de Castro Teixeira sintetiza tudo o que pode verdadeiramente existir de digno e elevado em um ser humano e consagra-o indelèvelmente como um dos mais destacados membros da família de Oswaldo Cruz. Êle viverá sempre conosco no culto que dispensaremos à sua memória e na nossa grande e imorredoura admiração pela sua vida exemplar em todos os seus aspectos.

Henrique Aragão

TRABALHOS CIENTÍFICOS DO DR. JOSÉ DE CASTRO TEIXEIRA

1) Contribuição ao estudo do funcionamento renal na anemia pela ankylostomose. Tese Fac. Med. Rio — 1929.

2) O funcionamento renal na febre amarela, na convalescença e após a cura. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1929, Supl. n.º 5, pág. 38.

3) Exame de sangue na anemia helminthica. (com Villela, G. G.). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1929, Supl. n.º 6, pág. 55.

4) Proteínas do plasma na ankylostomose. (com Villela, G. G.). Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1930, t. 23, n.º I, pág. 41.

5) Estudos sôbre nephrose lipóidica. (com Villela, G. G.). Brasil-Médico, 1931, Ano 45, n.º 7, pág. 147.

6) Altérations de l'épiderme dans la rougeole. Inclusions intranucléaires dans les cellules du stratum granulosum et des couches superficielles du corps muqueux de Malpighi. (com Tôrres, C. M.).
C.R. Soc. Biol., 1932, t. 109, n.º 2, pág. 138.

7) Localisation du virus de la rougeole à l'épiderme. (com Tôrres, C. M.).
C. R. Soc. Biol., 1932, t. 109, n.º 2, pág. 136.

8) Sôbre as células com centro celular pathológico encontradas no sarampo, *lichen ruber planus*, etc. ("Centrodermosen" de Lipschuetz) e a reação de Feulgen. (Nota prévia). (com Tôrres, C. M.).
Brasil-Médico, 1932, Ano 46, n.º 26, pág. 574.

9) Transmission de l'alastrim au Macacus rhesus. (com Tôrres, C. M.).
C. R. Soc. Biol., 1933, t. 112, n.º 9, pág. 917.

10) Histologie de l'alastrim chez le Macacus rhesus. (com Tôrres, C. M.).
C. R. Soc. Biol., 1933, t. 112, n.º 9, pág. 920.

11) Inclusions cytoplasmatiques de l'alastrim chez le Macacus rhesus et chez le lapin (com Tôrres, C. M.).
C. R. Soc. Biol., 1933, t. 112, n.º 9, pág. 922.

12) Étude des inclusions cellulaires de l'alastrim et de la vaccine chez le singe (Silenus rhesus). (com Tôrres, C. M.).
C. R. Soc. Biol., 1933, t. 114, n.º 35, pág. 967.

13) Estudo comparativo das inclusões do alastrim e da vacina no macaco (*Macacus rhesus*). Acom Tôrres, C. M.).
Mem. Inst. Osvaldo Cruz, 1934, t. 28, n.º I, pág. 193.

14) Notes sur, l'alastrim. Relations d'immunité entre l'alastrim et la vacine. (com Cunha A. M. da).
C. R. Soc. Biol., 1934, t. 116, n.º 16, pág. 61.

15) Diagnostic différentiel des inclusions cytoplasmatiques de l'alastrim et de la variole (com Tôrres, C. M.).
C. R. Soc. Biol., 1934, t. 117, n.º 31, pág. 505.

16) Sur les inclusions intranucléaires de l'alastrim et de la variole chez l'homme. (com Tôrres, C. M.).
C. R. Soc. Biol., 1935, t. 118, n.º 7, pág. 719.

17) Lésions de l'allanto-chorion de l'embryon de poulet inoculé avec des produits provenant de rougeoleux. (Com Tôrres, C. M.).
C. R. Soc. Biol., 1935, t. 118, n.º 9, pág. 908.

18) Culture du virus de l'alastrim sur les membranes de l'embryon de poulet. (Com Tôrres, C. M.).
C. R. Soc. Biol., 1935, t. 118, n.º 10, pág. 1.023.

19) Cultura do vírus de alastrim na membrana chorio-alantóide do embrião da galinha. (com Tôrres, C. M.).
Rev. med.-cir. do Brasil, 1935, Ano 43, n.º 3, pág. 81.

20) Estudo comparativo das inclusões do alastrim e da varíola vera. (com Tôrres, C. M.).
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1935, t. 30, n.º 2, pág. 183.

21) Quinino-resistência na malária.
O Hospital (S. Francisco de Assis), Rio, 1935, Ano 7, n.º 2, vol. 11, pág. 1.151.

22) O vírus da febre amarela e a membrana chorio-alantóide do embrião de galinha. Nota prévia. (com Tôrres, C. M.).
Brasil-Médico, 1935, Ano 49, n.º 45, pág. 999.

23) Infection de l'allanto-chorion de l'embryon de poulet par le virus de la varicelle.
C. R. Soc. Biol., 1936, t. 121, n.º 8, pág. 779.

24) Infection de l'allanto-chorion de l'embryo de poulet par le virus de l'herpes zoster (zona).
C. R. Soc. Biol., 1936, t. 121, n.º 8, pág. 781.

25) Diagnóstico do alastrim e a reação de Paul. (com Tôrres, C. M.).
A Fôlha Médica, Rio, 1936, ano 17, n.º 21, pág. 336.

26) Blood chemistry in hookworm anemia. (Com Villela, G. G.).
Jl. of Labor. & clin. Med. 1937, vol. 22, n.º 6, pág. 567.

27) Patogenia da difeteria.
A Fôlha Médica, Rio, 1937, Ano 19, n.º 20, pág. 315.

28) Método para diagnóstico do alastrim.
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1937, t. 32, n.º 4, pág. 543.

29) Nefrocirrose maligna associada a malformações congênitas. (com Tôrres, C. M.).
O Hospital (S. Francisco de Assis), Rio, 1938, vol. 13, n.º 3, pág. 239.

30) Reação da cornea do coelho inoculado com vírus do alastrim. (com Tôrres, C. M.)
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1938, t. 33, n.º I, pág. I.

31) Intoxicação por veneno de cobra. Necrose simétrica da córtex renal. Uremia. (com Azevedo, A. Penna de).
Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1938, t. 33, n.º I, pág. 23.

32) O mielograma na agranulocitose.
Ata Médica, Rio, vol. 2, n.º 5, pág. 377.

33) Histology of alastrim. (com Tôrres, C. M.).
3rd Internat. Congr. Microbiol., N. Y., 1939, t. 2-9, pág. 354.

34) Teste em camondongo para a determinação do poder imunizante das vacinas anti-rábicas.
Ata Médica, Rio, 1940, vol. 5, n.º 2, pág. 121.

35) Histologia do alastrim. (ocm Tôrres, C. M.).
Ata Médica, Rio, 1940, vol. 5, n.º 3, pág. 129.

36) O tamanho dos vírus e os métodos para a sua determinação.
Ata Médica, Rio, 1940, vol. 5, n.º 3, pág. 199.

37) Vacina anti-variólica.
Ata Médica, Rio, 1940, vol. 5, n.º 4, pág. 268.

38) Gripe epidêmica.
Ata Médica, Rio, 1940, vol. 5, n.º 5, pág. 339.

39) Vacina contra gripe epidêmica.
Ata Médica, Rio, 1940, vol. 5, n.º 6, pág. 404.

40) Diagnóstico da coriomeningite linfocitária.
Ata Médica, Rio, 1940, vol. 6, n.º 2, pág. 121.

41) O problema do linfogranuloma inguinal.
Ata Médica, Rio, 1940, vol. 6, n.º 3, pág. 190.

42) Método de diagnóstico do alastrim.
Ata Médica, Rio, 1940, vol. 6, n.º 4, pág. 253.

43) Diagnóstico do linfogranuloma inguinal.
Ata Médica, Rio, 1941, vol. 7, n.º 4, pág. 179

44) Doenças de virus e Saúde Pública.
Ata Médica, Rio, 1941, vol. 7, n.º 5, pág. 249.

45) Cinomose e gripe epidêmica.
Ata Médica, Rio, 1941, vol. 7, n.º 6, pág. 312.

46) Diagnóstico da gripe epidêmica.
Ata Médica, Rio, 1941, vol. 8, n.º 1, pág. 58.

47) Sarampo e sôro de convalescente.
Ata Médica, Rio, 1941, vol. 8, n.º 2, pág. 112.

48) Sarampo e rubeola.
Ata Médica, Rio, 1941, vol. 8, n.º 3, pág. 167.

49) Resfriado e gripe.
Ata Médica, Rio, 1941, vol. 8, n.º 4, pág. 225.

50) Conservação dos vírus.
Ata Médica, Rio, 1941, vol. 8, n.º 6, pág. 321.

51) Poliomielite e artrópodes.
Ata Médica, Rio, 1941, vol. 9, n.º 1, pág. 34.

52) Herpes zoster e varicela.
Ata Médica, Rio, 1942, vol. 9, n.º 2, pág. 66.

MEMÓRIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo 40 Abril, 1944 Fascículo 2

Relatório da excursão do Instituto Oswaldo Cruz ao Município de Santa Teresa, no Estado do Espírito Santo, em Agôsto e Setembro de 1943

por

Lauro Travassos

Nesta excursão fomos acompanhados apenas do auxiliar de laboratório José de Carvalho mas trabalhamos sincronizadamente com dois técnicos do Museu Nacional: Srs. Paulo Miranda Ribeiro e Joaquim Machado Filho. Em Santa Teresa, tivemos a cooperação do Dr. Augusto Ruschi, também do Museu Nacional. Partimos do Rio de Janeiro, às 20,45 horas do dia 23 de agôsto. Amanhecemos na cidade de Campos e às 21 horas do dia 24, chegamos à cidade de Vitória. No dia seguinte partimos de automóvel para a cidade de Santa Teresa onde chegamos às 17 horas. Nesta mesma noite instalámos o laboratório no prédio que serve de sede à Reserva Florestal do Museu Nacional e fizémos funcionar o grupo gerador afim de capturar insetos.

Do dia 25 de agôsto a 10 de setembro fizémos várias excursões para obter material de autopsias e durante tôdas as noites fizémos funcionar o foco luminoso para captura de insetos noturnos.

A época não era propícia à captura de qualquer espécie de animal, nem mesmo de aves, devido à temperatura bastante baixa e estarmos no fim de um longo período de estiagem. Não obstante, foram colecionados cerca de 500 insetos, entre os quais vários culicídeos e flebótomos, e necropsiamos 160 vertebrados. Durante as noites a afluência de insetos foi sempre pequena, não obstante usarmos durante várias horas 1.400 velas e durante tôda a noite pelo menos 800 velas.

O exame de peixes foi muito facilitado pela valiosa cooperação do Sr. Paulo Miranda Ribeiro que estudou metòdicamente a fauna dos diversos córregos da localidade.

O Município de Santa Teresa fica situado em grande parte no alto dos contrafortes da porção mais ao norte da Serra do Mar e é banhado por diversos córregos, algum dos quais são tributários do rio Doce e outros do rio Timbui. A cidade de Santa Teresa, situada a cêrca de 700 metros de altitude, tem clima ameno, porém bastante chuvoso por ser localizada em uma depressão do terreno, cercada de altas montanhas. A cidade é bem tratada e muito atraente, havendo pouca concentração de prédios, que são disseminados em área extensa, o que certamente contribuiu para o asseio reinante e as boas condições sanitárias. A população é em grande parte originária de emigrantes tirolêses, falam correntemente o italiano.

O sistema rural é o mais adiantado que se observa na maioria das localidades do Brasil, sendo a quase totalidade da população alfabetizada e de um padrão de vida bastante bom. As habitações são confortáveis e alegres, bem tratadas e cercadas de árvores frutíferas, hortas e jardins. E' impressionante a percentagem de pessoas que usam calçado.

Para informações detalhadas sôbre a produção do Município indicamos o livro do Dr. Enrico Ruschi. "Município de Santa Teresa — Corografia e História — 1 vol. 100 págs. — 1939". Em Santa Teresa, o Museu Nacional tem uma reserva florestal, cuidada pelo Dr. Augusto Ruschi. Esta reserva foi feita pela iniciativa dêste entusiasta naturalista, incansável, estudioso da ecologia das orquídeas e da bionomia dos beija-flores.

A reserva fica situada a 7 quilômetros da cidade de Santa Teresa, onde existe a sede instalada em confortável chalé, em cujos terrenos foi instalado rico orquidário.

Partimos de regresso no dia 10, às 8,30 horas. Chegamos à cidade de Vitória às 11 horas. No dia 11, partimos de Vitória, chegando ao Rio no dia 12 de setembro.

Apresentamos nossos agradecimentos ao govêrno do Estado do Espírito Santo, pelas facilidades dispensadas à Comissão do Instituto Oswaldo Cruz por intermédio do Dr. Enrico Ruschi, Secretário da Agricultura. Ao Sr. Augusto Ruschi, pela cooperação prestada, e aos Srs. José Bonfim, prefeito local, Hilton Ramos e Alberto Marrochi pelas facilidades e gentilesas recebidas. Devemos também salientar a cooperação e valioso auxílio dos Srs. Paulo Miranda Ribeiro e Joaquim Machado Filho.

RESUMO DO MATERIAL COLETADO

Insetos. Não obstante a época não ser propícia à captura de insetos, por se encontrar a região em fins de uma longa estiagem, conseguimos algum material, quase todo capturado à noite e atraido pelo foco luminoso. Na

lista que segue não estão incluídos sifonápteros, estafilinídeos e malófagos capturados sôbre os vertebrados examinados.

Colecionámos um total de 474 exemplares (com exclusão dos referidos acima) distribuidos da maneira seguinte:

Lepidópteros 381 exemplares, sendo:

Rhopalocera 31.
Heterocera 350 dos quais: *Adelocephalidae*, 12 exemplares; *Artiidae*, 112; *Pericopidae*, 38; *Ctenuchidae*, 26; diversos, 168.

Dipteros 87 exemplares das seguintes famílias: *Tipulidae*, 19; *Chironomidae*, 23; *Ceratopogonidae*, 5; *Psychodidae*, 5; *Anisopodidae*, 1; *Bibilionidae*, 2; *Sciaridae*, 4; *Mycetophilidae*, 1; *Cecidomyidae*, 8; *Stratiomyidae*, 1; *lepsidae*, 1; *Lauxamiidae*, 1; *Muscidae*, 1; *Culicidae*, 13 exemplares das seguintes espécies:

Anopheles (*Nyssorhynchus*) *oswaldoi*, 1 macho.
Aedes (*Ochlerotatus*) *scapularis*, 5 machos.
Culex (*Melanoconius*) sp., 3 machos.
Culex (*Microculex*) sp. A, 3 machos.
Culex (*Microculex*) sp. B, 1 macho.

Coleoptera, 11.
Hemiptera, 13.
Neuroptera, 5.
Orthoptera, 1.
Trichoptera, 17.
Blattariae, 1.
Perlaria, 1.
Hymenoptera, 1.
Homoptera, 3.

Ao Prof. H. Souza Lopes agradecemos a separação dos insetos nos diversos grupos e ao Dr. Sebastião de Oliveira a determinação dos Culicídeos.

Além dêste material, capturámos 7 amostras de *Siphonaptera*, 5 de *Mallophaga*, 8 de *Staphilinidae* ectoparasitos e 10 de acarianos.

Foram necropsiados 160 vertebrados de 37 espécies, assim distribuidos:

Mamíferos; 51 de 11 espécies.
Aves; 16 de 12 espécies.
Reptéis; 14 de 4 espécies.
Batráquios; 13 de 5 espécies.
Peixes; 66 de 5 espécies.

Os mamíferos foram determinados pelo Sr. Moojen de Oliveira, as aves pelo Sr. Herbert Berla, os répteis pelo Sr. Antenor Leitão de Carvalho e os peixes pelo nosso companheiro de excursão Sr. Paulo Miranda Ribeiro.

Êstes vertebrados deram 153 amostras de helmintos distribuidos de modo seguinte:

Nematódeos 108 amostras; trematódeos 17 amostras; cestódeos 24 amostras; acantocéfalos 4 amostras.

Os 160 vertebrados examinados estavam parasitados do modo seguinte com:

Nematódeos 80 ou 50%.
Trematódeos 16 ou 9,4%.
Cestódeos 23 ou 14,3%.
Acantocéfalos 3 ou 1,8%.

Os 51 mamíferos estavam parasitados com..

Nematódeos 30 ou 58,8%.
Trematódeos 7 ou 13,7%.
Cestódeos 10 ou 19,6%.

As 16 aves estavam parasitadas com:

Nematódeos 2 ou 12,5%.
Trematódeos .....
Cestódeos 5 ou 31,2%.
Acantocéfalos 2 ou 12,5%.

Os 14 répteis estavam parasitados com.

Nematódeos 6 ou 42,8%.
Trematódeos 2 ou 14,2%.
Cestódeos .. ..
Acantocéfalos 1 ou 7,1%.

Os 13 batráquios estavam parasitados com:

Nematódeos 5 ou 38,4%.
Trematódeos 6 ou 41,1%.
Cestódeos .. ..
Acantocéfalos .. ..

Os 66 peixes estavam parasitados com:

Nematódeos 37 ou 56%.
Trematódeos .. ..
Cestódeos 8 ou 12,1%.
Acantocéfalos .. ..

Foram os seguintes os vertebrados examinados:

MAMMALIA

RODENTIA

Caviidae

Cavia aperea Erxl. 3 exemplares — ns. 9552, 9649, 9650. Apenas um exemplar estava parasitado com *Trichostrongylidae*. Os dois exemplares femininos estavam prenhes.

Sciuridae.

Guerlingetus ingrami ingrami (Thom.) 1 exemplar n.º 9516 parasitado com *Trichostrongylidae* no pâncreas.

Muridae.

Rattus rattus rattus (L.) — 5 exemplares ns. 9551, 9558, 9573, 9577, 9581. 3 estavam parasitados, 1 com cestódeos e 2 com nematódeos de duas espécies.

Rattus rattus frugilegus (Raf.) 9 exemplares sob os ns. 9536, 9537, 9538, 9539, 9540, 9553, 9554, 9595, 9596, dos quais 4 parasitados com *Hymenolepis*, 3 com cisticercos, 1 com *Spiruridae* e 3 não parasitados com helmintos.

Nectomys squamipes (Brants), 13 exemplares sob os ns. 9523, 9529, 9530, 9557, 9561, 9578, 9580, 9598, 9603, 9619, 9623, 9626, 9659. 9 exemplares tinham *Amblyopinus*, 10 *Trichostrongylidae*, 2 *Filariidae* na cavidade abdominal, 6 *Spiruridae* no estômago, 2 *Echinostomatidae* no intestino delgado, 2 *Oxiuridae* no grosso intestino, 1 não parasitado.

Akodon arviculoides (Wagner), 5 exemplares sob os ns. 9555, 9556, 9559, 9560 e 9600. 4 estavam parasitados com *Dicrocoeliidae* no fígado, 3 com *Trichostrongylidae* no fígado, 3 com *Trichostrongylidae* no intestino delgado, 1 com *Oxiuridae* no cécum, 1 com *Amblyopinus*, 1 não estava parasitado. Um exemplar apresentava um neoplasma no fígado (diagnosticado na Divisão de Patologia).

Oryzomys eliurus (Wagner), 7 exemplares sob os ns. 9574, 9575, 9576, 9582, 9599, 9601, 9625. Todos estavam parasitados com *Trichostrongylidae* de mais de 3 espécies, 3 estavam parasitados com *Oxiuridae* no grosso intestino.

Oryzomys collinus (Thom.), 1 exemplar n. 9572, parasitado com *Trichostrongylidae*.

Oryzomys sp. 1 exemplar n. 9597, parasitado com *Trichostrongylidae* e *Oxiuridae.*

Didelphiidae

Didelphis marsupialis marsupialis (L.), 2 exemplares sob os ns. 9522 e 9579. Ambos parasitados com *Cruzia* e 1 com *Aspidodera.*

Metachirops opossum. (L.) 3 exemplares sob os os. 9647, 9648, 9657. Todos estavam parasitados com *Aspidodera,* 2 com cestódeos no intestino delgado e 1 com trematódeo no cecum, 1 com *Filariidae* sob a pele e 1 com uma larva de acantocéfalo sob a pele.

Xironectes minimus (Zimm), 1 exemplar n. 9656 com *Physalopteridae* no estômago, *Aspidodera* e *Trichuris* no grosso intestino.

AVES

Accipitridae

Spizaetus tyrannus (Wied). Um exemplar sob o n.º 9519, parasitado com acantocefalos.

Columbidae

Columba plumbea plumbea (Vieill). Um exemplar sob o n.º 9617, parasitado com *Ornithostrongylus.*

Rallidae

Ortygonax nigricans (Vieill.). Um exemplar sob o n.º 9618, parasitado com cestodeos.

Psittacidae

Diopsittaca nobilis longipennis Neumann. Examinamos 2 exemplares sob os ns. 9627 e 9628, não estavam parasitados.

Cuculidae

Crotophaga ani (L.). Um exemplar sob o n.º 9629, parasitado com *Subulura.*

Guira guira (L.). Um exemplar sob o n.º 9604, parasitado com cestodeos e acantocefalos.

Thraupidae

Thraupis sayaca (L.). Dois exemplares sob os ns. 9605 e 9606. Um parasitado com cestódeos e outro não parasitado.

Thraupis cyanoptera (Vieill.). Um exemplar sob o n.º 9624, não parasitado.

Vireonidae

Cychloris guyanensis cearensis Baird. Dois exemplares sob os ns. 9518 e 9535, dos quais um não estava parasitado e outro tinha *Spiruridae* sob a mucosa da moela.

Turdidae

Turdus amaurochalinus Cab. Um exemplar sob o n.º 9620, parasitado com cestódeos.

Turdus rufiventis (Vieill.). Dois exemplares sob os ns. 9615 e 9616. Um parasitado com cestódeos e outro não parasitado.

Lipaugus lanioides (Lesson). Um exemplar sob o n.º 9660, não parasitado.

REPTILIA

Iguanidae

Tropidurus torquatus (Wied). 11 exemplares sob os ns. 9505, 9506, 9507, 9508, 9509, 9510, 9514, 9517, 9651, 9652, 9659. Destes 9 não estavam parasitados, um tinha *Physalopteridae* e outro *Paradistomum parvissimum* (Trav. 1919).

Colubridae

Xenodon neuwiedi (Günther), 1 exemplar sob o n.º 9511, parasitado com *Kalicephalus.*

Liophis miliaris (L.). 1 exemplar sob o n.º 9661, parasitado com *Opisthogoniminae* e cestódeos.

Crotalidae

Bothrops jararaca (Wied.). 1 exemplar sob o n.º 9515, parasitado com *Dracunculus.*

AMPHIBIA

Leptodactyllidae

Leptodactylus ocellatus (L.). 6 exemplares sob os ns. 9502, 9503, 9512, 9622, 9652, 9654. 5 estavam parasitados com *Gorgoderina parvicava* (Trav. 1919), 3 com *Glypthelmins;* 3 com *Aplectana,* 1 com nematódeos no intestino delgado e 1 não estava parasitado.

Eleuterodactylus binotatus (Spix). 3 exemplares sob os ns. 9520, 9521, 9621. 2 estavam parasitados com *Cosmocercidae* e 1 não estava parasitado.

Hylidae

Hyla pardalis Spix 1 exemplar sob o n.º 9513, não parasitado.

Hemipipa carvalhoi Miranda Ribeiro. 1 exemplar n.º 9504, parasitado com *Catadiscus mirandai* Freitas, 1943.

Bufonidae

Bufo ictericus Spix. 2 exemplares, ns. 9602 e 9655. Ambos parasitados com *Oswaldocruzia* e *Cosmocercidae* e 1 também com acantocéfalo.

PISCES

Characidae

Astianax scabripennis (Jen.). 1 exemplar n.º 9531, não parasitado.

Hoplias malabaricus Bloch. 7 exemplares, ns. 9607, 9608, 9612, 9613, 9614, 9645, 9646. Não estavam parasitados.

Siluridae

Rhambdias lateristriga (Muell & Troch). 2 exemplares ns. 9630 e 9631, não parasitados.

Cichlidae

Geophagus brasiliensis (Quoy & Gain). 18 exemplares ns. 9532, 9533, 9609, 9610, 9611, 9632, 9633, 9634, 9635, 9636, 9637, 9638, 9639, 9640, 9641, 9642, 9643, 9644. 8 estavam parasitados com cestódeos e 10 não estavam parasitados.

Pygididae

Pygidium brasiliensis (Reinh). 38 exemplares sob os ns. 9524, 9525, 9526, 9527, 9528, 9534, 9541, 9542, 9543, 9544, 9545, 9546, 9547, 9548, 9549, 9550, 9562, 9563, 9564, 9565, 9566, 9567, 9568, 9569, 9570, 9571, 9583, 9584, 9585, 9586, 9587, 9588, 9589, 9590, 9591, 9592, 9593 e 9594. Apenas um exemplar não estava parasitado com *Procamallanus*. Estavam parasitados do modo seguinte: 1 com 4 exemplares, 2 com 3 exemplares do nematódeo, 7 com 2 exemplares, 27 com um só exemplar do nematódeo.

Estudos higiênicos sôbre os crustáceos e moluscos da baía de Guanabara (Rio de Janeiro) (*)

por

Lejeune Pacheco Henriques de Oliveira

"— Os crustáceos, lagostas, lagostim, camarões, pitús, "siris caranguejos têm carne firme, pouco digerível, "porém muito saborosa e nutritiva. Orça em 18 % de pro- "eicos além de combinações fosforadas. Os moluscos, ostras, "mexilhões são de digestão variável, conforme o preparo "crus ou cozidos. As ostras cruas são bem digeridas, excitam "o apetite dos convalescentes e dos gastrônomos; tem 9% "de proteicos 2% de gordura fosforada e 6% de substân- "cias não azotadas. Devem ser evitadas nos meses quentes "de procriação em que segregam substâncias nocivas; daí "a regra, para a Europa, de serem consumidas nos meses "que tem *r* (setembro a abril); para nós deve ser o con- "trário. Quando colhidas na embocadura dos rios e bahias "em que desaguam canalizações de esgotos são perigosas, "porque podem ser infectadas pelo bacilo tífico e propa- "garem a doença. Também têm sido acusadas de transmi- "tir ao homem o tricocéfalo. Foi do fígado do mexilhão "que Brieger e Salkowsky estreiaram a *mitilotoxina*, pto- "maina que provoca os mesmos acidentes que êstes molus- "cos em certas ocasiões".

AFRANIO PEIXOTO (118)

INTRODUÇÃO

As descrições antigas das perturbações da saúde do homem após a alimentação de carnes de crustáceos e de moluscos foram feitas baseadas em poucos sinais clínicos e com pequeno número de análises de laboratório. Atualmente, tais descrições são insuficientes; além de que não se fazia a rigor uma perícia cuidadosa para afastar as alergias. Entre os envenenamentos por

(1) Trabalho entregue para publicação em 29 de Março de 1944 e dado à publicidade em Abril.

substâncias estranhas às carnes dos crustáceos e dos moluscos, imputando os animais marinhos quando êles não eram nocivos, exporemos a curiosa intoxicação cúprica referida por PINARD.

Aludiremos, primeiramente, a crustáceos comestíveis cujas carnes são perigosas quando êstes animais se alimentam de vegetais tóxicos para o homem. Ocuparemos pouco tempo com os estudos feitos em carnes de crustáceos deterioradas, quer em temperatura ambiente, ou abaixo da ambiente, ou dos que se estragaram em latas fechadas. Demoraremos mais sôbre as alterações da saúde que aparecem após o consumo das carnes de crustáceos e moluscos ainda frescos, de pesca recente. Consideraremos quando os micróbios patogênicos são ou não comunicados às carnes, e também veremos — como se pode afastar as intoxicações produzidas por crustáceos e moluscos de pesca difícil, bizarros, desconhecidos como comestíveis, sòmente se alimentando dos que já são tradicionalmente conhecidos como comestíveis.

Quando os crustáceos ou os moluscos são contaminados pelas bactérias patogênicas para o homem, por intermédio de mãos desaceiadas, de recipientes ou águas sujas, ou por qualquer outra forma, êstes podem veiculá-los transportando ao homem os agentes produtores das febres: tifoides, paratifoides, do cólera, das colibaciloses e salmoneloses. Enumeraremos as seguintes alterações patológicas::

1.º) Intoxicações e toxi-infeções alimentares, individuais, por crustáceos.

2.º) Intoxicações e toxi-infeções alimentares coletivas, de forma epidêmica; assinalaremos as formas cujas partidas de crustáceos só se tornam patogênicas num determinado local. Discorreremos sôbre intoxicações experimentais por "talassina" de crustáceos e sôbre envenenamentos por "mitilotoxina" e vários outros causados por moluscos. Seguem-se os métodos de determinação de salubridade dêstes animais marinhos, a depuração, a profilaxia e por fim a bibliografia referida, por ordem alfabética.

. . . . . .

MARCEL PINARD (124) em seu trabalho datado de 1922, refere-se a crustáceos europeus, de côr azul (semelhantes a "siris") que causavam mal por sais de cobre; tal fato não acontecia nos animais pescados e diretamente entregues à cozinha (porque a quantidade de cobre existente normalmente na carne dos crustáceos é pequena); esta ocorrência sucedia quando os pescadores europeus banhavam êstes animais de côr azulada numa solução de sais de cobre, para dar-lhes colorações mais vivas (o mesmo faziam com as ostras antes de vendê-las). Como observação pessoal citamos que depois

de interrogar a numerosas pessoas da pesca e do mercado do Rio de Janeiro, há mais de dois anos, nunca ouvimos referências que tal processo fôsse usado com nossos animais marinhos comestíveis.

Antes de qualquer incriminação às carnes de crustáceos uma causa importante de ser afastada é a ingestão por êstes animais de substâncias tóxicas ao homem, sendo às vêzes inofensivas a êstes artrópodos. O exemplo dêste tipo de intoxicação foi o divulgado pelo Dr. Boyé (15) em 1911, relatando que o *Cancer ruricola*, espécie de caranguejo existente nas Antilhas e na costa ocidental da África causa acidentes tóxicos quando servido à mesa, porque tal crustáceo ingere os frutos de vegetais tóxicos para o homem. O povo do litoral das Antilhas sòmente o prepara para comer depois de guardado bastantes dias em cativeiro, a fim de que processe a eliminação de tôda substância tóxica que o caranguejo tenha ingerido.

Os crustáceos em conserva, enlatados durante muitos anos, podem às vêzes produzir fenômenos tóxicos por conterem sais de chumbo e de estanho. As conservas enlatadas de lagostas e de outros crustáceos, que não sejam fechadas em sacos de papel parafinado, trazem um pequeno teor de estanho dissolvido. Parece-nos, pela literatura que consultámos, que a máxima dose achada em lagostas enlatadas e guardadas em armazens durante oito anos foi 341 miligramas de estanho por quilograma segundo análises de Buchanan e Schryner (22). Pinard (124) infere que os temerosos acidentes incriminados ao estanho foram devidos a componentes de suas ligas: tais como o mercúrio, o cobre, o chumbo. Porém, se repararmos no relatório de Buchanan e Schryner, embora sejam tão nulos os acidentes impugnados ao estranho, êles propunham considerar suspeita qualquer conserva que o contivesse acima de 250 miligramas por quilo.

Quando as conservas de crustáceos, enlatadas no estrangeiro, são contaminadas pelo *Clostridium botulinum* (Van Ermengen) Holland, há produção da toxina botúlica.

Thompson e Tanner (150), em 1926, verificaram conservas de crustáceos e de ostras fortemente botulígenas. Não se observam casos de botulismo por conservas de crustáceos fabricadas no Brasil.

Quando as carnes de moluscos ou de crustáceos são deterioradas na temperatura ambiente ou no frigorífico, não sendo contaminadas por batérias, produzem um tipo de intoxicação que não fica enquadrado nas "toxi-infecções alimentares" pois não se isolam nem os agentes microbianos, nem as suas toxinas. Estas intoxicações eram enquadradas nas "produzidas por ptomainas" (Louis le Sourd) (143), cujo envenenamento foi acreditado ser devido a produtos de decomposição das proteinas das carnes.

Quando as carnes de moluscos ou de crustáceos se contaminam por bactérias de putrefação, na temperatura ambiente, encontramos germes, dispostos das seguintes maneiras:

1.º) Há um grupo de germes que depois de inoculado em outras purificadas ou no meio de cultura de ostras produz odôres putrefativos e aspecto repugnante.

2.º) Há outro grupo contendo germes acidificantes.

3.º) Por fim, germes inertes, não acidificantes. No primeiro grupo identificam-se várias espécies de bactérias dos gêneros *Serratia, Pseudomonas, Proteus, Clostridium* e *Bacillus;* no segundo grupo: *Aerobacter aerogenes* e *Aerobacter cloacae.* Quando contaminadas pelas *Escherichia coli* e *Escherichis communior* estas são achadas precocemente. Os *Streptococcus* e *Lactobacillus* são achados algum tempo depois; os levedos só aparecem quando há acidez, com o pH entre 4,0 e 4,6. Êstes estudos fôram feitos por vários autores e principalmente por HUNTER (72) que investigou os microrganimos da deterioração e putrefação das ostras.

Deve-se evitar a invasão das geladeiras e das câmaras frigoríficas por bolores, mantendo-as sempre em temperatura muito baixa. BIDAULT (9) aconselha dez graus abaixo de zero (— 10° C), temperatura esta onde não há desenvolvimento de cogumelos e aconselha acautelar contra a demasiada umidade do ar ambiente do frigorífico. Entre as espécies de cogumelos que aparecem nas geladeiras onde as carnes são guardadas, algumas vegetam nos lugares em que a substância orgânica dos alimentos é depositada, outras desenvolvem-se nos alimentos.

Enumeraremos as seguintes espécies de cogumelos, como exemplos das que fôram encontradas em geladeiras:

Mucor racemosus FRESENIUS; *Mucor spinosus* VAN THIEGEN; *Mucor mucedo* LINN. *Mucor pusillus* LINK; *Choestostylum fresenii* VAN THIEGEN, cogumelo que exige forte umidade, vegetando como manchas espessas esbranquiçadas, em forma de algodão; *Thamnidium elegans* SPEE, primeiramente de côr cinza, pouco depois passando ao verde, podendo vegetar até na temperatura cêrca de — 3° C. abaixo de zero, muito resistente aos antisépticos; *Penicillium crustaceum* FRIES, podendo viver desde 5° abaixo de zero até 0°, pouco exigente quanto à umidade; *Hormodendron cladosporoides* BONORDEN, que pode viver até 8° C. abaixo de zero; *Cladosporium herbarium* LINK é também comum nas geladeiras; acima de 0° começam a se desenvolver os *Stysamus stimonites* PERSON, *Botrytis elegans, B. pellicula, B. rosea.* O *Aspergillus niger* cresce consideràvelmente quando encontra uma atmosfera de grau higrométrico elevado.

A ação dos bolôres que crescem em baixas temperatura tem sido muito estudada nas carnes de vaca e de porco. Não é conveniente armazenar moluscos e crustáceos em frigoríficos inválidos por bolôres.

Os moluscos depois de destacados do seu habitat e guardados no mercado, na temperatura ambiente, podem ser danificados por várias pragas, entre elas a "vermelhidão dos moluscos". Hunter, em 1920, levantou a hipótese de que o agente causador dêste processo fôsse um levedo anascosporado (cogumelo imperfeito) produtor de pigmento vermelho. A doença dos músculos adutores das ostras é causada por cogumelos o *Myotomus ostrearum*.

ESPÉCIES DE CRUSTÁCEOS E MOLUSCOS COMESTÍVEIS

As poucas espécies de crustáceos e moluscos já tradicionalmente conhecidas como comestíveis são as únicas servidas à mesa. Fóra destas não se sabe ao certo se a carne das demais espécies de crustáceos e moluscos é ou não é nociva ao homem. Os pescadores não referem a nenhum crustáceo venenoso na Bahia do Rio de Janeiro. Em geral as espécies que não são vendidas no mercado, ao serem surpreendidas nas redes de pesca, são algumas vêzes lançadas ao mar junto ao lixo que não é suceptivel de ser vendido, outras vêzes guardadas como curiosidades, às vêzes vêm misturadas em proporção muito pequena com camarão, passando desapercebidas, e por fim às vêzes são animais raros, cuja pesca é difícil e de preço elevadíssimo como sejam os crustáceos das grandes profundidades.

A lista das espécies de crustáceos de origem marinha pescados no Rio de Janeiro que, segundo a tradição, são alimentos é a seguinte:

Família PENAEIDAE: com as seguintes espécies de camarões: *Penaeus brasiliensis* LATREILLE, 1817, vol. 25, p. 256; *Penaeus setiferus* (LINN) 1766; *Paenaeus kroeyeri* HELLER, 1862, pág. 425.

Família ALPHEIDAE: *Alphéus heterochelos* SAY, 1818, pág. 243 — surprêsa de pesca, vêm misturados com os camarões.

Família SCYLLARIDAE: *Scyllarus aequinoxialis* FABRICIUS, 1798, pág. 399, lagostim.

Família PALINURIDAE: com as seguintes espécies de lagostas: *Senex argus* (Latreille) 1804, vol. 3, pág. 393 e *Senex laevicauda* (Latreille) 1816, vol. 17, pág. 295.

Família HIPPIDAE: *Emerita emerita* (LINNAEUS), 1766, pág. 1055, conhecida como "tatui".

Família GRAPSIDAB: *Goniopsis cruentata* (Latreille), 1803, vol. 6, página 70 — "Aratu", comido pelo povo do litoral; não no mercado.

Família GECARCINIDAE: *Cardisoma guanhumi* (Latreille), 1825, pág. 685 — "Guaiamú"; *Ucides cordatus* (Linnaeus), 1767, pág. 1041 — "Ussá" ou "caranguejo verdadeiro".

Família PORTUNIDAE com as seguintes espécies de "siris": *Portunus spinimmanus* (Latreille), 1819, vol. 28, pág. 47; *Portunus spinicarpus* (Stimpson) 1871, vol. 2, pág. 148; *Callinectes sapidus* variedade *acutidens* (Rathbun), 1895 (96), vol. 17, pág. 351; *Callinectes ornatus* (Ordway), 1863, pág. 571; *Callinectes danai* (Smith), 1869, pág. 318; *Callinectes bocourti* (A. M. Edwards), 1879, pág. 226; *Callinectes exasperatus* (Gerstaecker), 1856, pág. 129 — sirí-assú; *Arenaeus cribarius* (Lamarck), 1818, página 259.

Família XANTHIDAE: *Menippe nodifrons* (Stimpson, 1859), pág. 53.

Família SQUILLIDAE: *Lysiosquilla scabricauda* (Lamarck), 1818, página 188, "tamburutaca".

No catálogo dos crustáceos do Rio de Janeiro, publicado por nós (143) em março de 1940 os espécies comestiveis são as de números 37, 38, 39, 41, 46, 47, 48, 54, 57, 66, 67, 90, 91, 92, 93, 94, 96, 97, 98 e 117.

Os principais moluscos comestíveis vendidos no Rio de Janeiro são os seguintes:

Família OSTREIDAE: *Ostrea parasitica* (Gmelin), grande ostra e outras espécies deste gênero: *O. rhizophorae* (Grild), *O. arborea* Chenu.

Família DONACIDAE: *Ephigenia brasiliensis* (Lamarck), nome vulgar: "tarioba".

Família LUCINIDAE: *Phacoides pectinatus* Gn. "ameixôa da lama".

Família MYTILIDAE: *Mytilus perna* Lam., grande mexilhão. *Mytilus strigatus* Haul., "sururu". *Modiolus guyanensis* Lam., "marisco".

Família VENERIDAE: *Venus flexuosa* Lam., "samanguaia"; *Venus rugosa* Linn., "Sernambi".

Família PSAMMOBIDAE: *Tagelus gibbus* Spgter.

Família STROMBIDAE: *Strombus pugilus* Lam., caracol.

Família OCTOPEDIDAE: *Octopus januarius, O. rugosus* Lam., polvos.

Família LOLIGIDAE: *Loligo brasiliensis* Bl., lula.

Família ARGONAUTIDAE: *Argonauta tuberculata* Lam.

VEICULAÇÃO DO VIBRIÃO COLÉRICO
PELOS
MOLUSCOS E CRUSTÁCEOS

Quanto aos crustáceos, apresentamos apenas uma notícia histórica, pois a veiculação do vibrião colérico (*Vibrio comma* Schroeter Bergey e outros) por êstes artrópodos é de literatura escassa, constitue fenômeno difícil de ser demonstrado, pois é necessário coincidência de condições tais que excetuem todos os veiculadores possíveis restando apenas o crustáceo. Uma observação neste sentido foi feita durante uma epidemia em Dung-Dai pelo Dr. Yung-Tsu (162) da escola de Medicina desta cidade. Este autor narra que no verão de 1926 um estudante japonês adquiriu a colera-morbus após se alimentar de caranguejo crus.

Entre os moluscos que podem transportar o agente específico da infecção colérica, estão as ostras. Êste fato foi demonstrado em primeiro lugar por Sir F. Eade, (47) em seguida foi confirmado por Mr. John Hollingworth. Remlinger e Noury (130), em 1902, encontraram o bacilo vírgula nos moluscos do mercado durante uma epidemia em Constantinopla; em 1911 Levi de la Vida (91) achou-o nas ostras que estiveram em água contaminada; em 1912 Defressine e Cazeneuve, durante uma epidemia em Toulon isolaram-no de moluscos. Ronchetti cita os casos das pessoas que adquiriam cólera em Milão, cidade que estava indene, depois de terem comido ostras provenientes de Tarento, cidade infectada. Gedding publicou no *Office Internationale d'Hygiene Publique* uma referência e semelhantes observações em Nápoles. Pinzani demonstrou que o vibrião colérico pode permanecer vivo, até 16 dias, nas ostras (*Giorn. R. Soc. Ital. d'Ig.* — 1911).

VEICULAÇÃO DAS *EBERTHELLA TYPHOSA, SALMONELLA SCHOTTMUELLERI* E *S. PARATYPHI* POR MOLUSCOS

A hipótese da veiculação da febre tifoide por intermédio das ostras, sendo datada de 1818, é anterior aos estudos bacteriólogicos da febre tifoide, cujo agente microbiano fôra descoberto por Eberth em 1880.

Como se sabe, em 1818, na França, Pasquier (117) assinalava acidentes tifóidicos sobrevindo aos consumidores de ostras; nesta ocasião nos Estados Unidos foram também constatados casos de doenças tíficas em idênticas condições.

Não deixaremos ficar em silêncio os acidentes relatados pelo professor Conn (36) da Universidade de Wesleyan, em 1894: Vários estudantes to-

maram parte em três banquetes diversos no dia 20 de outubro de 1894. Alguns casos de febre tifoide foram aparecendo até perfazer um total de 23 casos, morreram quatro sobrevivendo dezenove. Os estudantes que cairam doentes fôram servidos no mesmo banquete, todos comeram de ostras provenientes do mesmo vendedor. Os outros colegas que fôram convidados aos dois outros banquetes diferentes, uns consumiram ostras cozidas e outros foram servidos com moluscos provenientes de outro lugar, havendo também quem não se alimentasse de animais marinhos. Com alguns interrogatórios conseguiu-se apurar que as ostras incriminadas tinham sido pescadas em zona salubre, mas depois fôram guardadas e postas a enxaguar durante dois dias numa ostreira situada na embocadura do rio Quinnipiac, próximo do ponto onde um esgôto derramava seu conteudo. Soube-se que esta instalação sanitária originava na habitação de uma família onde um membro estava na fase confirmada de febre tifóide e outro parente na convalescência desta molestia.

Sabe-se que, em 1894, J. Lavis (87) advertiu sôbre a frequência, em Napoles, das desordens gastro-intestinais nos recém-chegados e achou nas ostras uma das causas principais de veiculação das mesmas. Êstes moluscos provenientes de Fusaro, de Lucrino, não causavam mal à saúde quando vendidos nestes locais, mas quando vendidos em Nápoles eram perigosos porque eram mergulhados nágua do antigo cais Santa Lúcia onde permaneciam dias, semanas e até meses. Neste tempo, neste cais desembocava um dos principais esgôtos da cidade. Fatos análogos aos constatados em Nápoles também fôram apontados em Brigton, cidade e pôrto da Inglaterra, por Newsholme (110), em estudo datado de 1895.

Parece-nos que o primeiro autor a isolar o bacilo tífico de ostras tenha sido Boyer em 1895, tendo depois seguido as verificações de Klein (75) e de Sacquepée (137). Depois que o agente etiológico da dotienenteria foi definitivamente estabelecido fêz figura a publicação de Chantemesse (28), da Academia de Medicina de Paris, em 1896, participando o papel das ostras na gênese de uma epidemia local de febre tifóide. No ano seguinte, em 1897, Mangenot (97) comunicava outra epidemia em condições análogas às relatadas por Chantemesse. Em seguida, as comunicações sôbre casos semelhantes vão se tornando cada vêz mais numerosas. Neste mesmo ano Ramaroni (127), na ilha da Córsega, em Bastia, analisou bacteriològicamente o alimento de origem marinha que era comido cru. A pesca dos moluscos era feita defronte do local aonde os esgotos de Bastia desembocavam. Ramaroni encontrou nos moluscos o bacilos tífico. Entre os trabalhos de Mosny (100) há um datado de 1899, que se refere insistindo sôbre a má higiene das ostreiras ter importancia durante as epidemias de febres tifoides. O mesmo foi

lembrado durante a epidemia de Renes por Sacquepée, (137) em 1902. Widal, Lemière e Abrami concluiram que a dotienentaria de origem ostreária se apresenta sôbre a forma de casos isolados, ou atingindo maior ou menor número de pessoas, infectando as que consumiram em comum ostras contaminadas. De tudo o que Widal, Lemière e Abrami expõem, podemos concluir que raramente se trata de verdadeiras epidemias atingindo às multidões, mas de epiécias. A causa principal de contaminação dos moluscos é a abertura de esgotos na proximidade das ostreiras. Para os que se interessarem por êste assunto enumeraremos as seguintes publicações: Mosny, 1917; Mangenot, 1917. Epidemias: no pôrto Lorient (Lacost 1902) em Sables d'Olonne (Netter 1904) e muitas outras em Genebra, em Londres, (Briau 1912, Latoude, Rabadeau, Dumas), sendo muito fácil de seguir as pistas da bibliografia dêste assunto.

Em Angers, a água potável sempre era salubre, mas sugiam numerosos casos de febre tifóide na época das festas do Natal e do Ano Novo. Esta ocasião coincidia com a que as ostras ocupavam o mercado desta cidade. Lafosse, em 1912, demonstrou a origem ostréaria da tifobacilose em Angers. Interessante é a publicação de Gigon, em 1916, em que comunica ter encontrado nas ostras de Marselha e bacilo tífico e os paratíficos A e B (*Eberthella typhosa, Salmonella shottmuelleri.* e *S. paratyphi*); também interesante é a de Stiles que participa ter isolado o bacilo tífico de molusco de Inwood, New-York. Brison, em 1933, fêz saber da contaminação das ostras do mercado de Bordéus pelos bacilos tíficos, paratíficos e por várias amostras de *Salmonellae*.

De feito, como na epiécia relatada pelo professor Conn (36), ou nos casos citados por Netter (107), em 1907, ou nos de Broadberg, apenas um interrogatório epidemiológico pode apontar os moluscos como veiculadores das febres tifóides, ficando formulada tal hipótese até que se pesquise diretamente o bacilo tífico nos moluscos. Como declaradamente os moluscos desempenham papel na transmissão de infecções ebertianas numerosos trabalhos fôram empreendidos, para os quais como fizémos há pouco enumeraremos a literatura analisando depois as principais publicações: Carrieu et Papas, 1932; Boinet et Teissoniere, 1927; Loir et Legangneu, 1928; Laporte, 1932; Lambert, 1934; Belim, 1934; Godlewski, 1934; Teissonière, 1935; Lancelin, 1935; Loir et Lagangneux, 1935; Dubreuil, 1936; J. et A. Castaigne,, 1937; Cambesdes, 1938; Verge, 1939.

Não só na França, mas também em outros paises como na Inglaterra e nos Estados Unidos, autores inglêses e americanos firmaram documentos interessantes como subsídio para o estudo higiênico de ostras. Apenas enumeraremos: Fuller, 1902; Digby e Shenton, 1906; Phelps, 1911; Gorham,

1912; STILES, 1912; SOPER, 1912; PEASE, 1912; JOSEPH, 1914; BROOKS, 1916; BANKS, em 1917 relata 42 casos de febre tifóide veiculada por ostras em São Diego, California; BUNDENESEN, 1925; HARRIS, 1925; KRUMWIEDE, PARK, COOPER, BRAND, TYLER, ROSENSTEIN, 1926, 1928; TANNER, 1932; OLD, GILL, 1940; GIBBARD, 1942.

Nos Estados Unidos, importantes investigações sôbre o assunto foram feitas em 1925 simultâneamente em Chicago e em New York. A epidemia de febre tifóide veiculada pela ostraria nestas cidades fôra a causa de uma conferência sob a presidência do Chefe Geral da Saúde Pública em Washington, no mês de fevereiro de 1925. Nesta reunião tomaram parte 150 grandes delegados sanitaristas, higienistas, bromatologistas e outros médicos. Também fôram convocados representantes da ostreitcultura industrial de 28 estados. BUNDENESEN (24), em 1925, relatou 129 casos de febre tifóide veiculada por moluscos em Chicago. Ficou demonstrado que esta epidemia teve orígem na que duas semanas antes houvera em New York e que fôra sumariada por HARRIS.

Vários trabalhos, entre êles o de CARRIEU (26), têm chamado a atenção sôbre sintomatologia da febre tifóide veiculada por ostras se anunciar diferentemente das de causa banal pelos seguintes sinais: — começo mais brusco, aparecendo poucas horas depois de ingestão dos moluscos sinais de intoxicação gastro-intestinal por ostras, que precede os sinais característicos da febre tífica. CARRIEU mostrou alguns casos em que a evolução é muitas vêzes mais fatal que a da febre tifóide quando veiculada pela água. Uma estatística de GORUSCHEIN dá 17% de mortalidade nas infectopatias veiculadas por ostras e ostras e 3,6% nas formas banais da dotienenteria.

Uma parte das mais interessantes dos estudos do professor DUBREUIL (46) patenteando o papel dos moluscos na conservação por tempo dilatado de endemia tífica, é aquela que refere as conclusões seguindo os documentos dos boletins gerais da Estatística de França. De acôrdo com êstes boletins DUBREUIL repartiu geogràficamente a febre tífica por cada departamento e averiguou que são quase sempre os mesmos que têm de mortalidade tífica elevada e verificou que a repartição geográfica dêstes era característica: eram os litorais. DUBREUIL atribuiu a conservação destas endemias aos moluscos, pois são consumidos em larga escala no litoral.

Da leitura do trabalho de LANCELIN (84), datado de 1928, feito em TOULON, depreende-se que nesta cidade, antes da Grande Guerra (1914-18) a água potável era contaminada com 5.000 a 10.000 colibacilos por litro e em cada série de 312 análises a *Escherichia coli* sòmente estava ausente umas 3 a 4 vêzes, aparecendo em 98,8% das análises. Pouco depois da guerra cloraram a água, e viu-se, por meio das análises sistemáticas, o número de

colibacilos cair pràticamente a zero. E, todavia, a febre tifóide não cedera após esta melhoria da água potável, o número de casos ainda era vultoso. Fôra preciso buscar outra causa. O general médico LANCELIN, inspetor de Higiene da Marinha Francêsa, achou-se no consumo de moluscos crus provenientes de ostreiras anti-higiênicas.

BIERRY e GOUZON (10) referem-se, em publicação datada de 1939, sôbre a "febre dos recencasados". Os cônjuges durante a lua de mel faziam uma viagem pela costa do Mediterrâneo, ficando ambos atacados de febre, que se verificou ser a tífica, cujo agente era veiculado, em parte por ostras insalubres.

VINCEY (154) em 1912, analisou estatìsticamente a relação entre o consumo de ostras e a febre tifóide em París, de 1906 a 1910, e pôde chegar (pelo raciocínio matemático) á seguinte conclusão: que 1 óbito sôbre 4 de febre tifóide era causado por bacilos veiculado por moluscos.

VITALIDADE DO BACILO TÍFICO NAS OSTRAS

Os estudos referentes à vitalidade dos bacilos coli e tífico nos moluscos foram iniciados por FOOT (57) em 1895 e fôram seguidos dos de vários autores (*) que procuraram determinar a sobrevida dêstes germes nas ostras e saber qual a ação dos fatores adversários das bactérias patôgenicas, e qual a resistência conforme as amostras de bacilos tífico, paratífico A ou B. No *Medical News* de 1895 fala FOOT que inoculou ostras fechadas com um centímetro de cultura em caldo de *Bacillus typhosus* (hoje — *Eberthella typhosa*) guardando-as depois em temperatura ambiente. Êstes bacilos permaneceram vivos, nas ostras, durante trinta dias.

CHANTEMESSE, SACQUEPÉE demonstraram que um contrato de 4 dias das ostras com água contaminada é mais que suficiente para que elas contenham o bacilos de EBERTH, associado ao colibacilo e a germes do genero *Proteus*. Os bacilos ebertianos só desaparecem oito dias depois que a ostraria foi enxaguada nágua pura.

BOYCE, em 1895, mergulhou, durante algumas horas, ostras nágua em que tinha verificado a presença de bacilos tíficos. Êste autor constatou que os germes permaneciam vivos nas ostras durante uns 10 dias.

KLEIN (76), em 1896, semeou bacilos de EBERTH nas ostras, mantendo-as fora dágua; êstes germes permaneceram vivos por onze dias. Outras

(*) Chantemesse, Sacquepée, Klein, Foot, Wood, Giaxa, Bovce, Houston, Field, Zeit, Jordan, Russel, Clark, Stiles, Round, Tonney, White, Krunwiede. Park e outros.

verificações de KLEIN, deixando os moluscos dentro dágua do mar pura e renovada constantemente, mostram-nos que, nestas condições, o bacilo tífico desaparece mais ràpidamente.

CYRUS FIELD consignou o seguinte fato em 1904: que não há sensível diminuição do número de bacilos tíficos quando as ostras são colocadas num tanque de água contaminada, e que a fagocitose pelos moluscos auxilia muito lentamente a destruição dêstes bacilos.

Tem a data de 1905, um novo trabalho de KLEIN (78) tornando a constatar que a *Eberthella typhosa* sobrevive nas ostras de sete a dez dias, e reisolando o bacilo tífico da ostraria que estava à venda no mercado.

É de advertir que a vitalidade do tifo-bacilo em moluscos pode ir além de dez dias. Notorias experiências confirmam, tais as de JORDAN, em 1925, determinando que uma ostra contaminada pelo bacilo tífico o elimina completamente ao fim de trinta e quatro dias.

Em publicação datada de 1925 fala KINYOUN (79) nas experiências que fêz em ostras contaminadas artificialmente com *Eberthella typhosa*, armazenadas nas condições comuns de mercado. Êste pesquisador procurou determinar por quanto tempo os moluscos são capazes de infectar o público. KINYOUN usou em Washington ostras apanhadas em *Chesapeake Bay* (Baltimore). Elas estiveram cêrca de uma semana fora dágua antes que as experiências fôssem iniciadas. KINYOUN usou várias amostras de *Eb. typhosa* e pôde isolá-las das ostras até 15 dias após a contaminação.

O bacilo tífico não cresce nágua intervalvar das ostras, sendo desta opinião: BOYCE, COSTA, HOVASSE e BOYER.

É tão interessante o que diz TONNEY e WHITE (152) que vale a pena ler os dados de sua publicação de 1925. Êles inocularam *Eberthella typhosa* em ostras abertas e fechadas guardando-as a diversas temperaturas (de cêrca de 37°, 21° e 7° C.). Nas ostras, quando abertas (das quais retiraram uma das valvas) *Eberthella typhosa* sobreviveu de 1, 4 e 22 dias, respectivamente a 37° C., 21° e 7° C. Nas ostras em conchas fechadas, infectadas e armazenadas a 21° C. o bacilo tífico sobreviveu oito dias; a 7° C. permaneceu por 60 dias (2 meses). A parte externa da concharia infectada e exposta durante 48 horas a 4% de solução de água do mar em água doce ainda contém numerosos bacilos tíficos. Com estas experiências TONNEY WHITE tornaram a demonstrar que a resistência *Eberthella typhosa* em concharia fechada ou aberta varia conforme a temperatura. Estas mesmas pesquisas fôram feitas por outros autores sendo que KRUMWIEDE, PARK, COOPER, GRUND, TYLER, ROSENSTEIN (80) tiveram oportunidade de confirmar os re-

sultados de TONNEY e WHITE, e sendo que GIBBARD (64) em 1942, estudou o efeito das baixas temperaturas e da hibernação sôbre o conteudo bacteriano das ostras.

De tudo o que aqui fica exposto podemos concluir, resumido: A vitalidade do bacilo tífico nos moluscos comestíveis pode chegar a um mês, nas condições comuns de pesca e de mercado, prazo suficiente para que uma ostra contaminada no viveiro possa transportar o bacilo tífico ainda vivo até ao consumidor.

LISTA DOS MOLUSCOS VEICULARES DE GERMES DO GRUPO TIFI-PARATÍFICO

A ostra *Ostrea edulis Linn.*, não constitue a única espécie de molusco que veicula o bacilo de EBERTH, mas êste é transportado por outras espécies quando servidas cruas. Os seguintes moluscos são dados como veiculadores de *Eberthella typhosa, Salmonella paratyphi* e *S. schottmuelleri*:

1.°) *Ostrea edulis* Linn., e suas variedades *lamellosa* Brocchi e var. *cyrnusii* Payrandeau; 2.°) *Ostrea virginica.* 3.°) *Ostrea cochlear* Poli; 4.°°) *Gryphea angulata* (Lam.); 5.°) *Mytilus edulis* Linn; 6.°) *Tapes aureus* (Gmelin); 7.°) *Tapes geographicus* Linn; 8.°) *Cardium edule* Linn; 9.°) *Cardium rusticum* Linn., 10.°) *Cardium exiguum* Gmelin; 11.°) *Tapes decussatus* (Linn); 12.°) *Tapes pullastra* (Montagu); 13.°) *Mya arenaria* Linn.

SALUBRIDADE DAS OSTRAS DO RIO DE JANEIRO

Os bacilos do grupo tifi-paratífico ainda não fôram isolados das ostras do Rio de Janeiro. A verificação do índice de poluição, tomado pelo colibacilo é necessária, mas nada ela demonstra realmente quanto à existência de *Eberthella typhosa,* ou *Salmonella paratyphi* ou *S. schottmuelleri.* Os índices de poluição achados por nós no Rio de Janeiro estão expostos sob o título "Verificação nas ostras brasileiras".

Devemos aceitar com grande reserva a veiculação por ostras das febres tifóides e paratifóides A e B, pois a etiologia da febre tífica, é complexa, e, nos locais onde há epidemias de febre tifóides de orígem ostreária, tal moléstia não é disseminada sòmente por moluscos. Não tornemos fàcilmente suspeito um alimento de primeira categoria e só admitamos a veiculação ostreária da tifo-bacilose quando tais moluscos provierem de viveiros de localização conhecida e de contaminação comprovada. Lembremo-nos que pode por vêzes haver muita parcialidade e muitas tendências no elaborar das estatísti-

cas, assim, em França: :em 1911 as estatísticas deram os portadores de germes como causa do aumento de mortalidade tífica, e, no ano seguinte, em 1912, a estatística de GUILLEMIN aponta como causa do mesmo aumento as ostras infectadas. As epidemias e epiécias de febre tifóide de origem ostreária só podem ser firmadas após interrogatório completo, imparcial e rigoroso. Para se chegar a conclusões indiscutíveis o bacilo tífico ou os paratíficos necessitam ser isolados tanto dos moluscos incriminados como das ostreiras de onde provieram. Os interrogatórios epidemiológicos são necessários, mas êstes por si só são insuficientes.

OS CRUSTÁCEOS E MOLUSCOS COMO VEICULADORES DE GERMES DO GRUPO COLI E DO GÊNERO PROTEUS

JONES isolou, de lagostas cozidas, germes do gênero *Proteus* e a espécie *Escherichia coli*. EYRE também achou a *Escherichia coli*, o *Aerobacter aerogenes* e *Proteus vulgaris* em vários crustáceos cozidos. Entre os pioneiros que encontraram o *Proteus vulgaris*, e *Escherichia coli*, a *Eberthella typhosa* nos moluscos, encontram-se CHANTEMESSE e SACQUEPÉE. A *Escherichia coli* foi pesquisada, em 1924, por JOSEPH, em ostras vendidas em Baltimore, que procurou saber qual a variação do número dêstes germes nas quatro estações do ano. Na primavera, a poluição era elevada, enquanto que nos meses de inverno era baixa. Mas, recentemente, em 1942, estudos sôbre a poluição das ostras durante o inverno fôram feitos por GIBBARD.

ELIOT, em 1926, contaminou com *Escherichia coli* ostras fechadas e abertas e guardou-as na temperatura ambiente; examinando-as diàriamente pôde isolar êste germe até o 14.º dia. Além do colibacilo, ELIOT estudou outros microorganismos como os do gênero *Aerobacter*, várias espécies de cocos, de bactérias e vibriões banais da água, de bactérias fluorecentes ou pigmentadas, de germes anaeróbios e aeróbios esporulados. BACON, em 1927, armazenou 400 ostras em temperatura que oscilava entre 21.º e 24.º C. Seguindo regras do *Standards Methods*, êste experimentador observou as variações da flora bacteriana a ponto de poder avaliar o tempo que as ostras estiveram fora do seu habitáculo natural pela análise bacteriológica. Seus estudos fôram seguidos pelos de HUNTER e LINDEN.

A importância do colibacilo é muito grande em higiene, pois êste é o germe pelo qual se faz o teste de salubridade.

. . . . . .

Quando se percorre a literatura médica o seguinte fato chama a atenção : — o número de publicações referentes a intoxicações alimentares por crus-

táceos e moluscos vai diminuindo,de alguns anos para cá, ao passo que as publicações referentes ao botulismo, às salmoneloses, às alergias vão tomando incremento Atualmente, os casos de intoxicações que ficam sem classificação são geralmente aquêles cujas carnes não puderam ser analisadas, porque todos os crustáceos ou moluscos da pescaria incriminada fôram consumidos.

Citaremos alguns exemplos. Entre os antigos : a publicação de Simon (142) em 1882, narrando uma intoxicação coletiva de 75 pessoas após se terem alimentado de crustáceos, as quais apresentaram, entre outros sintomas, cólicas, prostração, vertigens e diarréias. Destacam-se entre as observações citadas por Alvarez Cienfuegos y Cuebos (33), as ocorridos em Rouen, antiga capital da Normandia, aonde várias famílias enfermaram simultâneamente após consumirem em caranguejos procedentes, entre outros locais, de Honfleur, registrando-se várias vêzes casos de morte. Também uma série de intoxicações ora isoladas, ora em fórma de epiécias fôram narradas ocorrendo principalmente em Nantes, Copenhague, Cronstadt. Em 1904, Faidherbe descreveu vários acidentes de enterites e gastroenterites por crustáceos. Em 1907, Stcherback (141) descreveu, na Rússia, um caso de intoxicação por crustáceos. Se compararmos estas publicações antigas com outras mais recentes, mesmo não muito modernas, mas já datando de uns dez anos atrás, notaremos que as intoxicações que atualmente apresentam dificuldades ao serem classificadas, e, que constituem problemas ainda a resolver (já não se enquadram mais no botulismo, salmoneloses, nas contaminações das carnes por fezes humanas ou nas alergias), mas são as devidas a crustáceos de pesca recente, com atestados de salubres pelos métodos de determinação de colibacilos. Como exemplo, citamos os quarenta casos do relatório de Sir George Newmann (48) para 1930; casos descritos como "intoxicações individuais alimentares", incriminadas a crustáceos (lagostas e camarões) cujos exames laboratoriais fôram procedidos em doente por doente. Nenhuma bactéria especialmente patogênica, nenhuma causa acessível ao laboratório foi encontrada quer seja nos crustáceos quer seja nas fezes dos doentes.

A MESMA PARTIDA DE CRUSTÁCEOS É SALUBRE OU NÃO, CONFORME O LOCAL DE VENDA

Uma notícia interessante colhida na literatura médica sôbre intoxicações dêste tipo é a que ocorreu em 1923, no sudeste da Inglaterra (48). Uma pescaria de camarões provenientes de Gravesand foi dividida em 3 lotes: o primeiro foi vendido nesta cidade, o segundo foi vendido em Tombridge e o último em Billingshurt. Em Billingshurt, e nos seus arredores, noventa e cinco pessoas foram atacadas de intoxicação alimentar. A parte da população de

Gravesand e de Tombridge que comeu da mesma partida de camarões nada manifestou. Durante a estadia dos crustáceos em Billingshurt houve algo que se lhes deu, pois tornaram-se patogênicos. É de notar que nesta intoxicação os técnicos, depois de análises laboratoriais, não conseguiram encontrar nenhuma causa.

ESTUDOS EXPERIMENTAIS SÔBRE A "TALASSINA" DOS CRUSTÁCEOS

Alguns crustáceos contêm na carne uma substância que quando injectada em cães é provocadora de pruridos. Esta substância é solúvel no álcool, não é alterável pelo calor e foi denominada *crustáceo-talassina*. É de propriedade urticante semelhante à das *talassinas* das medulas e actinias e existe aproximadamente na proporção de seis centigramas para cada quinze quilos de crustáceos. O produto que se obtém é considerado por PEREZ (*) como sendo leucinas sôbre as quais a "talassina" se fixou. Os sais de cálcio não têm nenhuma ação preventiva contra o poder urticante da "talassina".

O que sôbre o assunto se sabe é apenas conhecido experimentalmente. Quando se injeta "crustáceo-talassina" cristalizada em um cão, o animal sente os primeiros efeitos quando recebe 1 décimo de miligrama de "talassina" para cada quilo de seu pêso. Uma injeção intramuscular de 4 miligramas por cada quilo que pese o cachorro produz o efeito seguinte: o cão imediatamente se agita, sacudindo frenèticamente as orelhas, esfregando-se e coçando-se em todos os obstáculos que encontra até o dia seguinte, quando o efeito da "talassina" cessa. Injetando-se dezesseis (16) miligramas de "talassina" por cada quilo que pese o cachorro os efeitos são extraordinàriamente aumentados: o cão imediatamente entra a gemer, a coçar-se, ora com uma pata ora com a outra. Lambe-se, morde-se nas costas, espirra. O animal fica com focinho inchado e avermelhado, coça-o e põe-se a esfregá-lo no chão quase sem cessar, tendo impulsões violentas e correndo pelo laboratório. Coça martirisadamente as orelhas, por vêzes a marcha torna-se-lhe titubeante, defeca às vêzes. Êste efeito dura, em média, 24 a 36 horas. Na maioria dos casos quando se injeta acima de 16 miligramas por quilo de pêso do cão, a "talassina" provoca acidentes mortais.

Alguns processos de preparação da "talassina" foram expostos na tese de A. H. PERRET (120), tese esta feita sob a orientação do sábio professor CHARLES RICHET. Vários trabalhos deste grande cientista que derramou tanta luz nos problemas relativos aos venenos de animais marinhos fôram divul-

(*) Referido por Perret (120).

gados na revista de inestimável valor, o *Comptes Rendus de la Societé de Biologie de Paris*. Os processos de isolamento da "talassina" são delicados, apresentam muito grandes dificuldades, exigindo vasto tirocínio em química-fisiológica por parte de quem fôr estudá-los. Como referência, tratarei apenas da preparação da "talassina" pelo método das precipitações sucessivas pelo álcool: — tomam-se quinze quilos de crustáceos bem lavados e mortos por esmagamento. A trituração dêstes em álcool produz um precipitado. Abandona-se êste 1.º precipitado, usa-se o filtrado que é destilado ao vácuo. Torna-se a precipitar pelo álcool a 95.º Êste precipitado tratado pela água quente, clorofórmio e benzina é transformado em líquido de consistência xaroposa, no qual vão ser feitas mais três precipitações sucessivas pelo álcool. No final da quinta ou sexta precipitação aparece a "talassina" sôbre a forma de cristais incolores quando se resfria a última solução alcoólica aquecida, na quantidade de cêrca de 6 centigramas, quantidade muito variável conforme a espécie de crustáceo, conforme o ciclo do crustáceo, a época de muda de carapaça e a época da desova. Não temos conhecimento que tal substância tenha sido pesquisada em crustáceos do Brasil.

OUTROS ACIDENTES INCRIMINADOS A MOLUSCOS

"Dois acidentes patológicos podem suceder quando se toma mexilhões como alimentos: um é a hipersensibilidade individual, outro é a intoxicação pela *mitilotoxina* relativamente grave pela taxa de mortalidade avaliada em 20% dos que adoecem". Dêste modo tratára Mosny (100) quando estudára êste assunto.

Os acidentes por *mitilotoxina* são graves, muitas vêzes mortais, atacam indistintamente tôdas as pessoas que se alimentaram do mesmo cardápio de mexilhões. São causados sempre por moluscos de mesma procedência, não exigem predisposição individual, manifestam-se por sintomas sempre idênticos.

Quanto à descrição mais perfeita talvez coincida que seja mesmo a mais antiga: a clássica descrição de Virchow, relatada na Sociedade de Medicina de Berlim, resumida no que segue: "No mês de outubro de 1885, em Wishelmshaven, alguns trabalhadores de estaleiros prepararam mexilhões que cresciam presos ao costado de um navio. Distribuiram-nos entre suas famílias e comeram-nos. Dezenove pessoas caíram doentes, quatro sucumbiram. Os primeiros sintomas de doença surgiram ràpidamente. Todos sentiram constrições na garganta, tremores em todo o corpo particularmente acentuados nos membros; excitação semelhante à da embriaguez. tão forte que lhes im-

possibilitava por completo qualquer repouso. Um prurido nas extremidades os martirizou, assim como um pêso na cabeça. A articulação da palavra tornou-se-lhes difícil. Suas pupilas se dilataram e não reagiram mais à luz. Não tiveram febre. Após êstes primeiros sintomas que duraram em média duas horas veio-lhes uma fraqueza geral que aumentava gradativamente. Seus membros entorpeceram e não se movimentaram mais. Não tiveram diarréia, cólicas, nem algidez. Os doentes se restabeleceram com exceção de quatro que sucumbiram em perfeita lucidez de espírito dentro de quatro horas".

MAX WOLFF revelou nos fígados dos mexilhões um princípio tóxico (próximo à mitilotoxina isolada por SALKOWSKI e BRIEGER — *Virchow's Arch.* 1899), cujas inoculações experimentais em animais de laboratório provocaram fenômenos quase idênticos aos que fôram vistos no homem. Acidentes análogos aos de *Wishelmshaven,* considerados como causados pelo mexilhão europeo *Mytilus edulis,* têm sido observados na Europa, nas costas do oceano Atlântico e Pacifico dos Estados Unidos da América. Apesar dos esclarecimentos já obtidos neste assunto ainda não há acôrdo unânime de todos autores, entre êles, LOMOYER afirma que seja venenosa sòmente a espécie *Mytilus striatus* e que a espécie *M. edulis* seja inofensiva.

As espécies de mexilhões existentes nas praias brasileiras secretarão *mitilotixina?* Qual espécie a produz? Quanto de *mitilotoxina* por quilo de molusco? Em que época? — Não posso responder, apenas posso citar a já tão conhecida lenda que existe entre os pescadores, que os nossos mexilhões, quando capturados em suportes de cobre, são perigosos e podem produzir acidentes mortais. Será tentador procurar isolar a *mitilotoxina* de nossos mexilhões que crecem em costado de latão, repetindo nas espécies de nosso litoral as experiências já executadas com as espécies européias.

Excluindo as alergias, as salmoneloses, a veiculação das febres tifóides e paratifóides, da cólera, do botulismo e os tipos de intoxicações já vistos nos parágrafos anteriores, resta discorrer sôbre outros acidentes patogênicos provocados pela ingestão de moluscos, que são: acidentes nervosos, desordens gastro-intestinais simples e veiculação de outros males disenteriformes. Referiremos também ao *Bacillus mytilus* Zardo e à produção de enterotoxina estafilocócica em ostras.

Os primeiros dêstes acidentes, acidentes nervosos, revelam-se principalmente em desordens na faringe e na laringe; são graves e geralmente mortais, mas tanto têm de raros quanto de pouco estudados (um caso referido por MOSNY (100).

Os acidentes gastro-intestinais simples são os menos graves e os que se observam mais frequentemente. A descrição a que cabe a prioridade neste

assunto a de GRAUCHER (66): "é na noite ou na manhã seguinte à ingestão de ostras que um mal estar aparece bruscamente, seguido de cólicas, de suores frios, com ou sem augústia precordial e náuseas ou vômitos. Ao fim de algumas horas tudo se resolve bem após evacuações de fezes líquidas que persistem por uns quatro dias; no quinto dia, a saúde anterior é restabelecida".

Cremos que a primeira observação de males disenteriformes de proveniência estercoral, veiculados por moluscos, tenha sido a de PASQUIER: um particular mandou escavar amplos viveiros para ostras, mas desastradamente êle os localizou junto das fossas de várias latrinas bem no lugar em que estas despejavam há vários anos. As instalações não estavam completamente prontas quando o proprietário apressado em tirar logo proveito comercial, alí colocou 60.000 ostras, lançando-as dias depois no mercado. Estas ostras foram consumidas, a princípio, sem que ninguém acusasse mal. Sete dias depois numerosas pessoas se acharam imultâneamente adoentadas; oito a onze dias depois elas sofreram atrozes gastralgias, cólicas, vômitos, diarréia e febre. Algumas tiveram hematemeses mais ou menos acentuadas, outras tiveram acidentes nervosos. Êstes fenômenos fôram observados simultâneamente em várias cidade como Fecamp, Bolbec, Rouen, Yvetet, Lillebonne e em todos os subúrbios, vilas e aldeias aonde fôram vendidas estas ostras. As fezes sanguinolentas duraram uns dez a quinze dias e a saúde restabeleceu-se logo após".

ZARDO isolou dos mexilhões a nova espécie, por êle denominada de *mytilus,* mocroorganismo do gênero *Bacillus*. Segundo o trabalho dêste autor, publicado na revista *Lo Sperimentale* Firenze, em 1901, o *Bacillus mytilus* produz intoxicações e gastroenterites mortais em animais de laboratório.

A enterotoxina estafilocócica, produzida em ostras cozidas, foi responsabilizada por dois casos de envenenamento alimentar, relatados por SCHERAGO e WEATER em 1938. DAVISON e DACK, em 1942, estudaram a produção de enterotoxina por estafilococos, em alimentos. Inocularam ostras cozidas e enlatadas com 1 cm3 de cultura em caldo de *Staphylococcus* (enterotoxico, amostra 161 — Davison e Dack). As latas fechadas e soldadas ficaram três dias na estufa a 37.° C. Ao 4.° dia, abriram-nas, semearam vários meios de cultura para demonstrar a presença de estafilococos e ausência de contaminações. Isolaram a enterotoxina por diálise e precipitação pelo sulfato de amônio. Quando injetada em macacos êstes vomitaram. DAVISON e DACK deram 100 cm3 de suco de carne destas ostras inoculadas a uma pessoa. Êste voluntário foi acometido, cêrca de 3 horas após, de intoxicação alimentar.

MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DA SALUBRIDADE DOS MOLUSCOS

A possibilidade dos moluscos comestíveis marinhos transformarem-se em disseminadores de moléstias infectuosas levou os sanitaristas a estudarem métodos para os surpreender no período em que são veiculadores de micróbios patogênicos. Os métodos usados têm como princípios a pesquisa qualitativa e quantitativa do colibacilo, *Escherichia coli*, no líquido a examinar. Adotou-se para critério que os moluscos e crustáceos que o contiverem acima de determinada taxa sejam tidos como contaminados não importando a pesquisa dos demais germes. São unânimes todos os bacteriologistas em afirmar que as ostras, os moluscos e crustáceos comestíveis marinhos não têm nas suas floras bacterianas normais nenhum germe que dê as mesmas reações de caracterização do colibacilo. Por êste assunto já tem perlustrado os mais eminentes bacteriologistas, entre êstes assinalaremos: FOOT, BULSTRODE, KLEIN, CLARK, FREEMANN, FERGSON, FULLER, HOUSTON, WOOD, EYRE, SEBATIER, DUCAMP e PETIT. O método de atestar a salubridade dos caranguejos marinhos será exposto adiante (Método de NICKERSON e colaboradores).

Para o exame de uma ostreira são necessários: 1.º) estudos pelas autoridades sanitárias competentes: da situação topográfica, da distribuição entre a população de moluscos provenientes dos viveiros e inquéritos epidemiológicos. 2.º) exames biológicos das águas onde vivem as ostras. 3.º) exames bacteriológicos das ostras, que serão feitos de acôrdo com as regras da *American Public Health Association*. Rotular-se-á cada ostra precisando a data, a hora, o local exato de captura, a maré, as correntes, a profundidade, a salinidade, a temperatura dágua, as condições meteorológicas. No nosso clima será sempre necessário transportá-las em marmitas frigoríficas de tal modo que a água do gêlo não se misture com a concharia. Não serão examinadas ostras apodrecidas. Abrir-se-ão ostras como recomenda EYRE desde (A) até (F). Haverá o mínimo espaço de tempo possível entre a colheita das ostras e o exame no laboratório.

MÉTODO DA *AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION*

O método que usamos para atestar a salubridade de moluscos marinhos é o empregado pela Saúde Pública dos Estados Unidos da América; adotamos a técnica da *Commitee on Standards Methods* (35) apresentada à *American Public Health Association* (34), cujos resultados são expressos por um sistema numérico convencional sendo o título máximo da poluição quinhentas unidades. O método usado é o seguinte:

A) Retira-se 1 cm3 do líquido de ostras colhido assèpticamente e coloca-se num tubo de fermentação para lactose, preparado conforme o *Standards Methods;* repete-se o mesmo (A) mais quatro vêzes tendo-se ao todo, cinco tubos de lactose, cada um com 1 cm3 de líquido de ostras.

B) Toma-se outra amostra de líquido de ostras e fazem-se duas diluições uma ao décimo e outra ao centésimo, utilizando uma solução de cloreto de sódio isotônica com água do mar; semea-se 1 cm3 de cada diluição num tudo de fermentação para lactose, resultando então mais dois tubos: o primeiro com material diluido ao décimo e o outro com material diluido ao centésimo.

C) Repetir o ítem B mais quatro vêzes, utilizando quatro amostras diversas de líquido de ostras. Ao todo ficam repicados quinze tubos de meio de fermentação de lactose, repartidos em cinco séries de três tubos cada uma, sendo que no primeiro tubo há 1 cm3 de líquido de ostras não diluido, no segundo há 1 cm3 da diluição ao décimo e no terceiro há 1 cm3 da diluição ao centécimo. Todos os tubos são levados á estufa a 37.° C. e lidos após 24 e 48 horas.

Os resultados são formulados da seguinte maneira: se a fermentação estiver presente no tubo de 1 cm3 e ausente nos diluidos ao décimo e ao centésimo: uma unidade parcial de poluição; se estiver presente no tubo de 0,1 e ausente no diluido ao centésimo: dez unidades parciais; se presente no tubo diluido ao centésimo: cem unidades parciais. Somam-se os resultados parciais e obtém-se o título de poluição. Exemplifica-se com a tabela abaixo:

	TUBOS COM MEIO DE FERMENTAÇÃO DE LACTOSE CONTENDO LIQUIDO DE OSTRAS			
	1 cm° não diluido	1 cm° de liquido diluído a 1/10	1 cm° de líquido diluído a 1/100	UNIDADES PARCIAIS
Série q	+	+	0	10
Série 2	+	+	0	10
Série 3	+	0	0	1
Série 4	+	0	0	1
Série 5	+	0	0	1
		Título de poluição		23

O título de poluição 50 corresponde ao número mais provável de 10.000 colibacilos por litro de ostras (maior poluição tolerada nos Estados Unidos). Acima desta taxa as ostras devem ser condenadas; a tais moluscos se recomenda que não sejam comidos crus e que passem por um estágio de limpeza em água do mar não poluida, ou em água clorada, até que o título de poluição cáia abaixo de 50. A análise pode terminar sòmente com êste *test* quando o resultado fôr inferior a 50 unidades de poluição, sendo pois o produto considerado salubre. Acima do título 50 é necessário fazer os ensaios presuntivos, parciais ou completos indicados no *Standards Methods* para o grupo *coli* e organismos fecais. Dois outros métodos os mais importantes são os seguintes:

MÉTODO DE HOUSTON

Tem por base a determinação do número de *Escherichia coli* por ostra. Os padrões que HOUSTON admitia eram os seguinte: *strict standard* quando tolerava até 100 *Escherichia coli* por ostra, *lenient standard* quando as aprovava contendo até 1.000 *Escherichia coli* por cada ostra.

MÉTODO RÁPIDO DE KLEIN (de 1905)

KLEIN empregou um processo rápido denominado por êle mesmo de *short analysis,* ou de *short method.*

No método de KLEIN tomam-se 6 ostras, que são examinadas separadamente, pesquisando o *B. coli* em ¼ de cm3 de liquor de cada molusco. A presença de *Bacillus coli* nesta quantidade liquor (¼ cm3) deve corresponder a 200 *B. coli* na ostra inteira, tomando 10 cm3 como a média teórica para cada ostra. O limite tolerado por KLEIN era de 200 colibacilos por ostra.

MÉTODO DE BIGGER

Consiste em fazer dissolução do liquido de ostras ao vigésimo empregando água fisiológica estérilizada.

Desta dissolução repicar três tubos de "caldo-lactosebile": sendo 2 centímetros cúbicos no primeiro tubo, 1 cm3 no segundo tubo, 0,2 cm3 no terceiro tubo. A fermentação positiva no primeiro tubo representa ter provàvelmente 100 *Escherichia coli* por ostra, no 2.º tubo 200, e o terceiro tubo 1.000 *Escherichia coli.* Êstes resultados não são expressos em n.º de *E. coli,* mas nos seguintes padrões: *strict, moderate* e *lenient.* O padrão *moderate* = = 200 colibacilos por moluscos é o mesmo de KLEIN. Quanto aos outros padrões *strict* e *lenient* são os mesmos HOUSTON.

MÉTODO DE EYRE

O método mais completo de exame bacteriológico das ostras foi concebido por EYRE, em 1924. Consiste em pesquisar qualitativa e quantitativamente, por cada ostra, principalmente os membros do grupo coli-tífico, os *Clostridium welchi* e vários *Streptococci* dos esgotos. O seu método é longo e trabalhoso. O resultado é conseguido ao fim de 14 dias, por vêzes. Em geral usa-se analisar as ostras pelo método de EYRE nas grandes inspeções sanitárias, ao lado de inqueritos epidemiológicos, de exames topográficos dos viveiros de moluscos, por ocasião das epidemias de febre tifóide de origem ostreária.

A sua técnica, exposta em 1930, é a seguinte:

A) — Tomar dez ostras; limpar cada ostra com escova, água, sabão, debaixo de uma torneira. Depois de bem escovadas, tomá-las com pinças estéreis e passá-las uma por uma em um jato de vapor dágua várias vezes, depositando-as cada uma numa "placa de Petri" esterilizada.

B) — Antes de continuar, lavar as mãos com água, sabão e escova, mergulhá-las em lisol a 2%. Depois passá-las em água estérilisada.

C) — Enxugar as mãos numa toalha esterilizada abandonando-a.

D) — Colocar outra toalha estérilizada na mão esquerda e a outra na toalha, com a parte mais convexa para baixo.

E) — Com uma faca de ostras, esterilizada (na mão direita) abrir a concha. Não deixar cair o líquido contido nas valsas. Usar 1 faca para cada ostra.

F) — Dilacerar o corpo da ostra, com a tesoura estéril, misturando todos os líquidos que apareçam.

G) — Transferir a ostra dilacerada e o líquido ao "cilindro", é; um frasco esterilizado na autoclave.

H) — Fazer o mesmo com as outras nove ostras.

I) — Misturar tudo no "cilindro" com o seu agitador de vidro esterilizado. O total é ajustado a 100 cm3. Êste material foi chamado por EYRE de *Mixed-Liquor* e o que contiver 1 ostra estará em um décimo do "*M. L.*", isto é, em 10 cm (10 cm *M. L.* = 1 ostra).

J) — Usar 0,1 cm do *Mixel Liquor* para semear cada placa de "Nutrose de EYRE" (*) ((cada 0,1 cm = 1/100 de ostra). Semear 3 placas dêste meio.

(*) Modificação do meio original de Drigalski-Conradi para isolar a *Eberthella typhosa*Q Eyre, 1930, pág. 201.

Se a *Escherichia coli* ou *Streptococci* estiverem presente, na proporção de mais de 100 por cada ostra, caracterizar suas colonias.

K) — Fazer placas de gelose simples, gelose sal e gelatina, para contagem total do número de bactérias. Repicar 0,1 e 0,5 de "*M. L.*" para cada placa. Repicar 0,1 cm do "*M. L.*" em 3 placas de "Glicose-Bismuto-Agar de Wilson".

L) — Inocular 1 cm3 e 0,1 cm3 de *Mixed Liquor* em cada um de dois tubos de leite tornesolado (= 1/10 e 1/100 de ostra).

M) — Adicionar água distilada estérilizada ao "cilindro" até 1.000 cm3. Agitar. Esta emulsão é referida por Eyre como *Cilinder Fluit*. A percentagem de bactérias de uma ostra será para todos os propósitos práticos, como se houvesse 100 cm3 de fluído (3,2 cm3 de *Mixed Liquor* foi usado para várias culturas, restou 96,8 cm3).

N) — Fazer placas de agar-sal de Eyre, agar e gelatina para contagem do n.º total bactérias do "*C. F.*". Usando 3 placas de cada meio de cultura contendo 0,2 — 0,3 e 0,5 cm3 de fluido. (1 cm3 = 1/100 da ostra).

O) — Inocular 1 cm3 "*C. F.*" em um tubo de leite tornesolado. (= 1/100 de ostra).

P) — Dispor 4 cápsulas de vidro em fila e numerá-las I, II, III, IV. Colocar 9 cm3 de água destilada, esterilizada, em cada placa.

Q) — Na Cápsula I — adicionar 1 cm3 do "*C. F.*" e misturar.

Na Cápsula II — adicionar 1 cm3 da cáp. I e misturar.
Na Cápsula III — adicionar 1 cm. da cáp. II e misturar.
Na Cápsula IV — adicionar 1 cm3 da cáp. III e misturar.

R) — Rotule 8 tubos de "Caldo-biliado-sal de Eyre" numerando-os de 1 a 8 e inocule-os com as seguintes porções de líquido de ostras, diluido

N.º 1 — 1 cm3 cáps. IV — 1/1.000.000 de ostra.
N.º 2 — 1 cm3 cáps. III — 1/100.000 de ostra.
N.º 3 — 1 cm3cáps. II — 1/10.000 de ostra.
N.º 4 — 1 cm3 cáps. I — 1/1.000 de ostra.
N.º 5 — 0,5 cm3 "*C. F.*" — 1/200 de ostra.
N.º 6 — 1 cm3 "*C. F.*" — 1/100 de ostra.
N.º 7 — 5 cm3 "*C. F.*" — 1/20 de ostra.
N.º 8 — 10 cm3 "*C. F.*" — 1/10 de ostra.

S) — Tranferir 100 cm3 "*C. F.*", o que corresponde ao conteúdo de uma ostra num frasco "Ehrlenmeyer" e adicionar 50 cmc. de "caldo biliado ao dobro de Eyre". Rotular "g".

T) — Verificar o material, rotular bem, e tomar apontamentos do que fêz.

U) — Levar os tubos a estufa de 37.° C. por 24 horas, aerobiamente.

V) — Repicar os tubos que mostrarem reação ácida e formação de gás em "agar-nutrose de EYRE"; depois da inoculação isolar as colinais para identificação dos germes.

A numeração dos germes é feita anotando que fração de ostra corresponde ao tubo de numeração mais baixa do qual se isolou o germe.

Exemplo: — Se o crescimento ocorreu em todos os tubos abaixo ao número 1, o micro-organismo isolado estará presente, no mínimo, na taxa de 1.000.000 de germes por ostra.

W) — Repicar uma série de oito tubos de caldo glicosado com a mesma quantidade de material que no item R. Incubar sôbre condições aeróbicas a 37° C. por 48 horas. Examinar. Identificar os germes.

X) — Repicar oito tubos de leite tornesolado com quantidade de material semelhante a alínea (*R*), com tubos de cultura preparados como nas alíneas (*L*) a (*O*). Aquecer no banho-maria a 80° C. por 10 minutos. Incubar a 37° C. por 48 horas em condições anaeróbias. Se o crescimento ocorrer confirmar identificar e numerar os anaerobios.

O resultado da análise é expresso do seguinte modo: 1.°) — Número total de bacterias por ostra, crescendo a 37° C. em 24 e 48 horas. 2.°) — Listas de tôdas as espécies de germes identificados. 3.°) — Em frente ao nome de cada microorganismo o seu número por ostra (análise quantitativa).

Êste método é quase sempre ligeiramente modificado de acôrdo com o critério do bacteriologista, que pode empregar outros meios de cultura; em alguns casos se faz a numeração de bactérias por ostra a 22° C.

MÉTODO ADOTADO PELA *WORSHIPFUL COMPANY OF FISHMONGERS*

A, B, C, D, E) — Como no método de EYRE, já exposto.

F) — Transferir a ostra dilacerada e o seu líquido para 1 "placa de Petri", esterilizada; usar 1 placa para cada ostra.

G) — Pipetar 0,2 centímetros cúbicos do líquido assim obtido da primeira ostra e repicá-lo num tubo de caldo de carne prèviamente desprovido de açúcares, peptonado a 2%, tornesolado, lactosado a 2%, com bile de boi a 3%.

H) — Repetir êste processo com as 9 ostras que ainda restam; tendo o cuidado de guardá-las cada uma na sua "placa de Petri".

I) — Pipetar 0,2 cm3 de líquido da primeira ostra e repicá-lo num tubo de caldo glicosado. Repetir o mesmo com mais duas ostras seguintes: 2.ª e a 3.ª usando mais 2 tubos de caldo glicosado.

J) — Da 4.ª ostra tirar 1,0 cm3 de líquido. Repicá-lo num tubo de leite tornesolado. Repetir esta manobra com a 5.ª e 6.ª ostra, ao todo repicam-se 3 tubos de leite.

K) — Mandar os 16 tubos à estufa de 37° C. durante 24 horas.

Ao fim do período de incubação os tubos de cultura são examinados. Verifica-se a presença de ácido e gás no meio biliado e a coagulação do leite tornesolado. Havendo presença dêstes sinais presume-se que haja crescimento de *Escherichia coli* e *Clostridium welchii*. Os 0,2 de cm3 empregados nestas experiências representam 1/50 do líquido total da ostra (que em média possue um volume de 10 centímetros cúbicos). Nêste caso a ostra da qual o material foi retirado teria 50 *Escherichia coli*. Nêste caso a ausência de ácido e gás é interpretada como se tivesse menos de 50 *Escherichia coli* por ostra. Avalia-se assim a poluição em colibacilos.

Houve vários critérios para saber qual o número de colibacilos seria dado como índice da poluição. Sirva de exemplo as tabelas dos métodos que expusemos: tabelas tomando 5.000, 10.000 e mesmo até 20.000 colibacilos por litro de líquido de ostras. Dêste modo resaltam as dificuldades dos pesquisadores para elaborarem uma tabela de contaminação; com razão, já houve numerosas tentativas para estabelecer um critério uniforme de inspeção, tendo se reunido, para alcançar este objetivo vários congressistas concertando nos dispositivos de uniformização dos métodos para atestar a salubridade dos animais marinhos.

Em 1924 uma comissão bacteriológica foi constituída a pedido da *Worshipful Company of Fishmongers* para relatar sôbre o emprêgo de padrões biológicos para verificação da qualidade dos moluscos marinhos. Foram convocados dos mais eminentes bacteriologistas britânicos, que concluíram que os métodos de EYRE e KLEIN tinham *Standards* que não eram severos, e que em vez de examinarem 8 ostras examinassem 19, que adotassem a tabela de EYRE e KLEIN, que tolerassem 10.000 colibacilos por litro do líquido examinado das ostras.

Na conferência de Middelburg, em 1932, recomendou-se modificar o método de BIGGER, adotando-se o meio "Peptona-Lactose-Taurocolato" (água peptonada a 2%, lactosada 1%, adicionada de taurocolato de sódio a 0,5% contendo 0,5% de cloreto de sódio, e 1% de Indicador de Andrade), e usan-

do-se fórmulas A G, aG, ag, Ag, para exprimirem a intensidade da produção de ácido e de gás.

Antes da atual guerra contra o Eixo Berlim-Roma-Tokio na Inglaterra, nos Estados-Unidos, adotava-se 10.000 colibacilos como o índice de poluição que condenava uma pártida de ostras.

Para verificação do teor de poluição uma das grandes dificuldades consiste na descontinuidade de contaminação bacteriana: a mesma quantidade de moluscos ou crustáceos não recebe o mesmo número de germes fecais no mesmo espaço de tempo; sirva-nos de exemplo: um esgoto em certos momentos deixa de funcionar, em outros momentos descarrega a tôda vazão. Outra dificuldade são os erros devido a se tomar amostras ao acaso; de uma grande partida de ostras que adeanta tomar a salubridade de 10 ostras apanhadas ao acaso? Tôdas dez podem estar contaminadas num saco onde tôdas são puras e a pesquisa da minoria haverá de falsear o resultado de tôda a partida.

Para que tenha valor a verificação da salubridade, esta deve ser feita de acôrdo com as indicações e o critério de um higienista ou um sanitarista de reconhecida competência que examinará o local, verá as influências das correntes e marés, marcará hora e dias em que deverão ser feitos êstes exames escolherá quais as ostras que deverão ser levadas ao laboratório.

VERIFICAÇÕES NAS OSTRAS BRASILEIRAS

Os resultados que nós obtivemos com partidas de ostras compradas no Mercado do Rio de Janeiro, vendidas para serem consumidas, vão expostos na seguinte tabela.

Data	*Título de poluição*
1942	
6 janeiro	50
7 janeiro	23
8 janeiro	140
9 janeiro	32
12 janeiro	50
13 janeiro	4
14 janeiro	41
15 janeiro	410
16 janeiro	140
17 janeiro	401
19 janeiro	14
20 janeiro	23
21 janeiro	140
22 janeiro	500

Êstes resultados mostram que por vêzes aparecem no mercado moluscos fortemente poluidos (dias 15, 16, 17, 21 e 22 de janeiro de 1942). O material dêstes moluscos foi ressemeado bacteriològicamente em placas de gelose lactosada, de onde foram isoladas colônias fermentadoras de lactose cujos caractéres morfológicos, testes positivos para o vermelho de metila, negativos para o Voges-Proskauer, formação de indol, ação sôbre o citrato e gelatina reconfirmaram os caráctéres *coli* fecal, presentes em número superior a 10.000 colibacilos por litro de ostras.

Quanto à poluição natural, em locais diversos, analisámos, de dezembro de 1941 a março e 1942, ostras pescadas em Paquetá, ilha situada no recôncavo da Baía de Guanabara e também mexilhões das pedras da antiga Ilha de Villegaignon. Nesta ilha que fica mais próximo à entrada da barra, o material achava-se ora puro, ora altamente poluído, condicionado pelas circunstâncias locais, muito variáveis, principalmente com os movimentos das correntes e marés. Ao contrário, o material obtido em Paquetá era sempre de contaminação uniforme em qualquer dos dias que nós o examinamos dando resultados variando entre 23 e 41 unidades de poluição.

Analisamos a salubridade das ostras que colhemos em Marambáia, na Escola de Pesca Darci Vargas, em 3 de junho de 1942. O título de poluição variou de 1 a 20. As ostras de Marambáia mostraram ótima salubridade, mas infelizmente eram muito pequenas pois as conchas maiores mediam apenas uns 5 cm de diâmetro. As condições ótimas de salubridade do material marinho colhido junto à Marambáia era para se esperar, pois não há poluição da água do mar por fezes humanas provinientes de esgotos na Escola de Pesca Darci Vargas.

PROCESSOS DE DEPURAÇÃO DE CRUSTÁCEOS E MOLUSCOS

A contaminação da zona onde se faz a pesca e onde são depositadas as ostras se produz pelas águas poluídas dos centros urbanos; como sabemos o mar é o esgoto natural de tôdas as aglomerações que o margeiam e suas águas não são puras senão a uma certa distância da praia. A água do mar se contamina com os detritos dos animais terrestres e esta contaminação é levada pelas correntes, pelos ventos; a influência contaminadora da costa não se faz mais sentir senão a partir de cinco quilômetros da praia; daí por diante o número de germes intestinais, micróbios patogênicos do homem diminue ràpidamente, depois desaparecendo completamente. As más condições higiênicas são favoráveis aos desenvolvimento e à engorda de numerosos animais marinhos; é nas águas imundas e salobras das bahias ou próximo ás fozes de rios que as ostras encontram boas condições de alimentação e consequentemente de reprodução. Elas prosperam bem nas zonas em que uma diminuta

corrente dágua doce traz uma certa poluição, alimentando uma *plankton* particularmente abundante, nutrição habitual da ostra. Concebe-se daí o porque da tendência dos produtores instalarem seus viveiros nas águas sujas, pois são mais ricas dêste *plankton* nutritivo. CARRIEU e PAPPAS referem-nos interessantemente sôbre êste assunto dizendo-nos que os moluscos engordam ràpidamente em estabelecimento ostreícolas (como os de BOUZIGES) com enorme poluição; as ostras aí crescem notàvelmente e atingem dimensões tais em nove meses que não conseguiriam nem em dois anos no próprio Oceano. Como a maioria dos melhores moluscos e crustáceos, os mais gordos, os mais nutritivos, vivam pelo menos uma parte da vida em águas sujas, cheias de detritos orgânicos, lugares com alto teor de poluição bacteriana, onde acham abundante alimentação; e como êles muitas vêzes venham a se contaminar em águas poluidas por fezes humanas, propuseram vários higienistas os fazer passar por um chamado "estágio de estabulação" com o fim de purificá-los.

De um modo geral os crustáceos e moluscos podem se poluir, contaminando-se com fezes humanas, na origem, ou fora da origem (no entrepôsto, na distribuição, etc.). No caso de poluição na origem está o nosso guaiamu *Cardisoma guanhumi* que pode nutrir, além de outros alimentos, também de fezes humanas; igualmente o fazem outros caranguejeiros de pantanos. Também siris, guaiás e ussás poderão se poluir na origem.

A primeira publicação de EYRE comunicando ter isolado da carne de crustáceos cozidos germes como a *Escherichia coli,* o *Aerobacter aerogenes* e *Proteus sp.,* veio chamar a atenção dos higienistas sôbre outro problema — qual o mínimo tempo de fervura é o necessário para estelizar os germes patogênicos que são comunicados aos crustáceos? O seguinte fato narrou R. JONES, em 1938: quando esteve a bordo, tratou de mais de mil casos de gastroenterites, e, os que mais o impressionaram, por terem sido as mais graves manifestações enfermiças das perturbações digestivas, foram devidos ao consumo de camarões e lagostas. Êste autor contribuíu para profilaxia destas gastroenterites determinando o tempo de fervura que esteriliza os crustáceos apanhados em águas poluídas por fezes humanas, sem danificar as suas carnes, e poude concluir que 20 minutos de fervura não é tempo suficiente para uma esterilização perfeita do canal intestinal do crustáceo porquanto a carne fresca do animal pode tornar infectada pelos detritos de seu próprio intestino durante a preparação.

ROYDS JONES foi cozinhando várias partidas de crustáceos, cada uma durante um espaço de tempo cada vez maior, e, de cada partida foi isolando o *Bacillus coli* e o *B. proteus.* R. JONES usou primeiramente nas suas experiências as maneiras de cozinhar recomendadas pela *Royal Society for the Prevention of Cruelty to Animal* (1937) cujo método consiste em colocar os

camarões, as lagostas água fria, aquecê-los gradualmente; depois êle também fêz o contrário: jogou-as diretamente água fervente e cozinhou-as por tempos diversos. Após isto, cada intestino foi retirado assèpticamente, analisado bacteriològicamente. JONES usou o meio de DRIGALSKI — CONRADI para isolar as colônias fermentadoras e não fermentadoras da lactose. Após o isolamento dos germes, seus outros caracteres bacteriológicos foram observados. Êle isolou uma série de colônias do grupo *coli-aerogenes* algumas dando reações do *Bacillus coli comunior, B. anaerogenes* e *aerogenes*. Pelas suas conclusões um quilo de crustáceos necessita ficar 45 minutos água fervente, tendo sido atirado diretamente dentro desta. Se colocarmos a mesma quantidade de crustáceos água fria e aquecermos gradualmente, a contagem de 45 minutos será tempo insuficiente para matar os *Bacillus coli communior, B. anaerogenes* e *B. aerogenes* até que suas carnes fiquem consideradas salubres quando testadas pela contagem de colibacilos.

Damos a tabela de JONES:

CARNE DE CRUSTÁCEO	TEMPO DE FERVURA (colocado diretamente água fervente)	TEMPERATURA DO INTERIOR DA CARNE
Cerca de 547 gramas.....	10 minutos	82,0
	15 minutos	84,5
	20 minutos	86,5
	25 minutos	85,5
	30 minutos	89,0
Cerca de 1000 gramas.....	25 minutos	79,0
	35 minutos	81,0
	40 minutos	87,5
	50 minutos	90,0
	60 minutos	91,0

Além da fervura, outros meios de purificação dos crustáceos e moluscos de que mais serve a prática corrente são os seguintes: o enxaguamento em água doce renovada várias vêzes (pois precede a todos outros processos pela sua simplicidade), a estabulação em água do mar pura, em água superarejada, a javelização (pósta em prática desde 1916 em Conway), o desprendimento de cloro pela eletrólise da água do mar, o tratamento pelo iodo em água superarejada. Excusamo-nos de detalhar e apontar as vantagens de cada um dêstes processos; tôdas estas operações apresentam o maior interêsse profilático, contanto que sejam suficiente prolongadas e que se cuide de proteções secundárias, minuciosas, tais como a posterior embalagem em envelopes esterilizados exigida em alguns estados dos Estados Unidos da América.

Os moluscos comestíveis são frequentemente transportados de águas poluídas para águas salubres, onde ficam tempo suficiente para se purificar.

As bactérias patogênicas vão ter da água poluida aos aparelhos digestivo e respiratório dos moluscos; quando êstes são colocados em água salubre tais bactérias são expulsas. A rapidez da auto-purificação depende de várias causas. Estudaram êste assunto primeiramente KLEIN (76), em 1896, e JOHNSTONE (73) em 1909. Em seguida PHELPS (122), em 1911, depois de várias experiências, concluiu que quatro dias e às vêzes em um prazo menor, dois, as ostras transportadas das águas poluídas para salubres, não apresentam mais a *Escherichia coli*.

KRUMWIEDE (80, 81) e os colaboradores depois de verificar que *Eberthella typhosa* poderia viver por cêrca de duas semanas nas ostras em água naturais, pesquisaram qual o tempo em que êstes moluscos se tornariam salubres quando transplantados para água limpa; também pesquisarem qual efeito que tem ostras contaminadas com *E. typhosa* sôbre as ostras não contaminadas, em viveiros higiênicos. De acôrdo com seus dados, a Saúde Pública da cidade de New York proibiu a pesca de ostras em locais contaminados, permitindo-a sòmente um mês após a última contaminação da ostreira. TANNER (147)em 1932, cita a providência tomada, em vários locais dos EE. UU., para que as ostras contaminadas no verão sejam pescadas três semanas após, e no inverno quatro semanas após a última contaminação.

Desde épocas imemorais as ostras foram enxaguadas em água doce. Os ingleses e americanos chamam a êste enxaguamento de *giving the oyster a drink, freshening,* ou *fattening*. O *Bureau of Chemistry* em 1909 nos Estados Unidos estudou êste metodo, e recomendou que rotulassem tais ostras de *Floated oyster* permitindo vir ao mercado ostras "enxaguadas" e "não enxaguadas".

NELSON, em 1910, foi favorável à prática da ostra enxaguada, prática esta adotada no norte dos Estados-Unidos após as experiências dêste autor que comparou grandes partidas de ostras enxaguadas com as não enxaguadas. As ostras são colocadas em caixotes que são submersos numa água do mar de salinidade menor que a do *habitat* natural. As vantagens que resultam dêste processo são: a remoção do muco, o aumento do volume da carne da ostra, o melhoramento na cor e na textura, mais firmeza do fechamento das valvas (donde melhor retenção da água intravalvar durante o transporte e a armazenagem) e principalmente e diminuição da poluição *coli-fecal*.

Todavia é preciso lembrar que a enxaguadura por tempo demasiado em água doce retira as boas qualidades de cozinha das ostras, alterando-lhes o paladar. Os enxaguadores geralmente ficam mais próximos dos armazens que dos viveiros.

Bodin (12) e Domergue em 1912 introduziram o processo de enxaguamento de ostras em aquários, com água do mar obtida por meio de bombas e filtrada; purificaram-nas tão bem quanto pelo processo le Nelson.

O estudo bacteriológico do processo de enxaguadura foi feito por Krunwiede (81) e colaboradores em 1928. A contaminação dos moluscos era feita com bacilo tífico e com fezes humanas. A comissão chefiada por Krumwiede concluiu que: 1.º) — ostras contaminadas com *Eberthella typhosa,* quando prêsas no seu habitáculo natural, (embora em dois ou quatro dias já possam não conter bacteriològicamente a *E. typhosa*), para os efeitos de vigilância sanitária sejam consideradas não contaminadas sòmente depois de passadas três semanas após a última contaminação. 2.º) transferência de ostras de águas suspeitas para águas limpas, fazendo-lhe o enxaguamento, (com a condição que não se mexa nem se pesque no enxaguador num período de 4 semanas) da após um mês salubridade ao produto, confirmada pela licença de venda da Saúde Pública.

TRATAMENTO PELA ÁGUA CLORADA

Os métodos de purificação das ostras pela água clorada são mais rápidos que os de enxaguadura. As ostras colocadas em água do mar contendo cloro livre apresentam o "fenômeno de Well": fecham as valvas e uma vez ou outra afastam-nas ràpidamente deixando uma abertura de poucos milímetros, só vindo a abrí-las completamente assim que o cloro desaparecer. O tempo de duração dêste fenômeno é feito tal que permita a esterilização da água exterior pelo clóro. O pioneiro sôbre cloração das ostras foi Wells (158). Em 1916 êste autor fêz experiências com hipoclorito de cálcio purificando satisfatòriamente ostras contaminadas.

Vários autores, entre êles Carmelia, têm estudado industrialmente a depuração de ostras pelos hipocloritos. Para trabalhar segundo a sua técnica, exposta no volume 31 do *Public Health Reports,* usa-se material flutuante, de pesca e de cloração. O material flutuante é rigorosamente impermeável à água, do tipo de caique ou uma catráia de fundo chato, medindo cêrca de 16 por 3 por 1 metro. O fundo da catráia tem várias batoqueiras de cerca de 6 cm de diâmetro, arrolhadas com batoques de madeira. Em tais catráias fêz-se a depuração de 1.500 a 2.700 litros de ostras. Quanto ao material de pesca usam-se os petrechos e as equipagens da ostreicultura. Quanto ao material de cloração necessitam-se: latas de 500 gramas de hipoclorito de cálcio comercial, gral de 500 gramas para pulverizar o hipoclorito, pás de madeira de 1,80 m de comprimento para mexer as ostras. Quanto à aparelhagem de laboratório usam-se: frascos, pipetas, buretas para dosar o cloro nágua; ortotoluidina a 1% na solução de ácido clorídrico a 1 por 10. As catráias são amarradas sempre em locais pouco frequentados por embarcações e distantes

das fontes poluidoras. Pescam-se as ostras de manhã; colocam-se nas catraias 1.500 a 2.700 litros de ostras conforme a capacidade. Retiram-se os batoques, deixando a água entrar até muito acima da concharia de tal forma que cada volume das ostras corresponda a 5 volumes de água. Fecham-se as batoqueiras. Abre-se 250 gr. de hipoclorito de cálcio, (*) joga-se no pilão, pulveriza-se e derrama-se o pó nágua, espalhando-o com as pás de madeira. Dosar o cloro livre. Repetir a dosagem dez vezes, de meia em meia hora. Assim que não houver mais cloro livre recolocar o hipoclorito determinando sempre o cloro livre em partes por milhão (em média 10 p. p. m.). Deixar repousar durante 6 horas. Pela tarde então recolocar o hipoclorito e mexer com a pá. Redeterminar o cloro livre. Deixá-las até a manhã seguinte.

Os organismos fecais, depois que contaminam os crustáceos são dificilmente removidos. A carne das lagostas contendo organismos fecáis, mesmo que seja deixada nágua contendo 10 partes por milhão de cloro, por dois minutos, não se desembaraça fàcilmente de tôdas as *Escherichia coli*. O tratamento de camarões e lagostas nágua contendo cloro é feito com soluções diluídas, as mesmas que são utilizadas para as ostras. Entre os vários processos convém notar os três principais: um dêles usado no estado de Massachussets consiste em manter a quantidade de cloro fixa (de 0,3 a 0,5 p. p. m.) durante todo o tratamento; outro processo empregado em Conway e no *State Shellfish Demonstration Plant at Willoughly*, Norfolk, consiste num tratamento rápido e preliminar com água do mar clorada, em forte proporção (acima de 5 p. p. m.) e logo após êste tratamento êles são mantidos por períodos longos numa água do mar salubre, sem clóro. O terceiro tipo de tratamento, consiste em colocar os animais em águas cujos organismos fecais foram eliminados pelo cloro. O tempo gasto em qualquer um dêstes processos varia muitíssimo, dependendo do grau de purificação requerida, da temperatura ambiente, do índice de poluição e de muitos outros fatores.

Embora nem tôdos os organismos indesejáveis sejam removidos das carnes pelo tratamento clorado, é sempre aconselhável usar êste agente quando se preparam os produtos de crustáceos. Isto é particularmente recomendado para as lagostas quando fôr necessário lavar suas carnes abdominais para remover as partículas de seu intestino. O cloro nágua serve para fazer descer a um teor mais baixo a poluição bacteriana, prevenindo uma maior contaminação que aquêla que por si já tão elevada existe normalmente; serve também para eliminar organismos que, quando presentes numa conserva acabada podem ser a causa de sua decomposição e podem torná-la inútil. O cloro em fracas proporções embora possa ser aplicado aos produtos alimentícios, é mais usado para remover contaminações microbianas dos utensílios que devam entrar em

(*) Mistura de cloreto e hipoclorito de calcio conhecida no comercio pelo nome de "cloreto de cal".

contacto com as carnes alimentícias. Deve-se tomar certo cuidado com as soluções de cloro a serem aplicadas nos produtos de crustáceos, quando em altas concentrações (acima de 10 partes por milhão), sabe-se que o cloro causa reações extremamente nocivas manifestando suas trocas químicas por alterações na cor e no aroma das carnes dos crustáceos.

O cloro é útil no contrôle do empacotamento de crustáceos em conservas. As soluções são de valor inestimável na manutenção das condições higiênicas dos tanques, contanto que, logo se acrescente, elas sejam utilizadas inteligentemente. Não faltará quem cuide que basta banhar o vasilhame nas suas soluções, mas ao contrário, é necessário limpar os utensílios antes de passá-los no cloro, pois o banhá-los em cloro por si só não é suficiente. Também não se deve esperar que todos os problemas sanitários dos crustáceos fiquem resolvidos em tudo e por tudo sòmente com o uso do cloro e das soluções cloradas.

A estabulação dos siris (crustáceos da família *Portunidae*) mais bem feita, fôra executada no *State Shellfish Demonstration Plant* por NICKERSON, FITZGERALD e MESSER (111). Vejamos, em traços rápidos como foi feita: Êstes autores arrumaram os tanques em um andaime de dois andares, para que a água caisse de uns nos outros. Os tamanhos dos tanques variaram de acôrdo com as exigências das experiências; N. F. e MESSER usaram-nos medindo aproximadamente 1,5 metros por 7 metros; usaram também pequeno aquários de tratamento medindo cêrca de 1,20 por 1 metro. A primeira operação consistiu em lavar os crustáceos em pequenas tinas à parte contendo água limpa. Para as demais operações a água foi obtida diretamente do mar por intermédio de bomba; esta enchia uma grande caixa de reserva, colocada em lugar mais alto; desta caixa de reserva passava para um tanque onde recebia uma solução clorada. A quantidade de cloro era regulada, de modo a obter-se concentrações bem determinadas. A água clorada que saía dêste tanque ia encher os aquários de tratamento. O tamanho dêstes aquários nas pesquisas de NICKERSON foi pequeno, de modo a comportar 20 a 80 siris. Depois que os crustáceos passavam tempo suficiente nos aquários de tratamento retiram-se três dêstes animais para serem reexaminados no laboratório, aonde êstes autores faziam os testes para os organismos fecais.

DETERMINAÇÃO DA SALUBRIDADE DOS CRUSTÁCEOS

Remover, em primeiro lugar as brânquias, assèpticamente. Cortá-las assèpticamente em pequenos pedaços (por experiências prévia saber o pêso aproximado de 10 gramas: se cada filete da brânquia pesar $\times$ gramas, tornar-se-ão $10/\times$ filetes $=$ n filetes). Colocar êstes filetes em 10 centímetros cúbicos de água distilada e esterilizada; misturar até quase solução homogê-

nea. Desta solução tomar 10 — 1 — 0,1 — 0,01 — 0,001 de centímetros cúbicos e colocar cada porção em um tubo de caldo lactosado; deixar incubado a 37° C. por 48 horas. Fazer as confirmações para o colibacilo. Esta técnica que se usa para brânquias é a mesma para o faringe e para o intestino. Porém como não se consegue obter 10 gramas de intestinos coloca-se um intestino inteiro de cada crustáceo, tomando três crustáceos para cada 100 centímetros cúbicos de água esterilizada. Os resultados obtidos baseam-se no "número mais provável de colibacilos" nos 10 centímetros cúbicos da solução contendo 3 amostras de 10 gramas de brânquias, tiradas de 3 crustáceos e no último balão de 100, as 30 gramas de faringes.

Alguns resultados, dos obtidos por MESSER (111), figuram na tabela abaixo:

Número de siris		32	40	42	75
Número mais provável de colibacilos (*M. P. N.*) Antes do tratamento	branquias	11.000	150.000	640.000	64.000
	ventrículos	11.000	240.000	150.000	240.000
	intestinos	5.400	4.600	11.000	150.000
Temperatura dos aquários		24°	27°	28°	30°
Cloro por litro em p. p. m.		0,01 a 0,10	0,05 a 0,15	0,06 a 0,9	0,0 a 1,5
Horas de tratamento		24	24	48	48
Miligramas de oxigênio consumido por dúzia de crustáceos por hora		248,8	254,1	232,2	271,2
Número de litros de água, requeridos por dúzia de crustáceos, por hora, para manter o oxigênio constante		37,5	38,1	33,8	41,0
Número mais provável de colibacilos (*M. P. N.*) depois do tratamento	branquias	61	3	10	0
	ventrículos	30	46	0	0
	intestinos	0	0	0	0
Redução por cento dos colibacilos	branquias	98 lb	99%	99%	100%
	ventrículo	99%	99%	1100%	100%
	intestinos	100%	100%	100%	100%
Crustáceos mortos depois do tratamento		12	7	5	12
Porcentagem de crustáceos mortos		38,1%	17,5%	11,9%	16%

Êstes resultados são animadores sob o ponto de vista da eliminação dos micro-organismos coliformes; como vemos, na tabela acima, n lote com 32 crustáceos contaminados (contando 5.400, 11.000, 11.000 colibacilos) após um tratamento de 24 horas, os colibacilos desapareceram em 99%, perdendo-se ao terminar o estágio de estabulação 38,1% dos crustáceos. No outro lote com 42 crustáceos, de muitíssimo maior contaminação (640.000, 150.000, 11.000 colibacilos) foram tratados durante 48 horas, reduzindo-se 100% dos colibacilos, morrendo apenas 11,9% dos crustáceos.

Os crustáceos requerem mais oxigênio para dar vida a seus processos fisiológicos que as ostras. O metabolismo das ostras consome uma cota horária de 35 a 128 miligramas de oxigênio dissolvido por 36 litros dágua à temperatura de 21° a 23° C. A mais altas temperatura (25° até 29,3° C.) os crustáceos requerem desde 240,1 até 271,16 miligramas de oxigênio dissolvido por dúzia, em cada hora. É evidente que crustáceos sendo animais móveis consumam muito mais oxigênio que ostras, animais fixos. Isto tem um aspecto prático muito significativo, pois será necessário para manutenção do tratamento dos crustáceos um volume de água do mar muito superior ao que há mister para purificação de idêntico peso de ostras. Ao contrário das ostras os crustáceos continuam aspirando água através das brânquias na presença de cloro. A mortalidade é alta, cêrca de 13,7% mas não se sabe o porque. Desconhece-se em que condições de saúde acham-se os carangueiros e siris quando chegam ao estágio de tratamento; presume-se que a mortalidade seja também devida em parte à alta temperatura, ao pH da água e ao acúmulo de animais que ferem uns aos outros com as suas pinças. Os resultados das experiências de purificação indicam-nos que raramente os organismos fecais das brânquias, do faringe e do intestino são integralmente removidos de crustáceos fortemente poluidos. Parecera ser mais fácil afastar os organismos fecais das brânquias que os do faringe e intestino, mas o não é, pois o conteúdo intestinal logo que excretado logo é substituido por outro novo, ao contrário do das brânquias aonde sempre numerosos detritos permanecem entre grande quantidade de arêia.

Estas limpezas debaixo de um critério experimental são fáceis de executar, mas na prática são difíceis de realizar sob o ponto de vista comercial, devido ao grande volume de água do mar renovada constantemente durante o estágio de estabulação.

ESTABULAÇÃO DE GUAIAMUS E USSÁS

Ora, se alguns dos métodos de purificação de ostras, quando adaptados aos crustáceos marinhos nos não deram ainda resultados práticos e econômicos, ao contrário, o seguinte processo usado com caranguejos terrestres tem

dado margens a alguns sucessos. É muito próprio dos nossos guaiamus, *Cardisoma guanhumi,* o costume de alimentarem (quando as encontram) com carnes apodrecidas, com fezes humanas. Nós vimos para tal estabulação um dos dispositivos interessantes — o usado pelo povo quando constroi o seu "chiqueiro de guaiamus". E' prática observada na população do litoral apanhar êstes animais e colocá-los para conservação e para limpeza numa pequena área cercada, alí jogando-lhes os restos de comida. Passado alguns dias os criadores os matam ou retiram-lhes sòmente o "puan", isto é, sua pinça, para servirem-na como alimentação, depois soltam o guaiamu que regenerará o "puan" dentro de um prazo de tempo que ainda não foi determinado com precisão. Outros cozinham-no inteiro. Êste processo de estabulação vimos fazer na ilha de Bom Jesus não só com o guaiamu, mas também com o nosso "ussá" ou caranguejo verdadeiro" o *Ucides cordatus* LINN.

SUMÁRIO

Revisão da literatura médica sôbre higiene de crustáceos e moluscos marinhos. Intoxicações por elementos extranhos às carnes de crustáceos e moluscos: por sais de cobre, vegetais tóxicos; estanho e chumbo nas conservas de crustáceos; botulismo.

Putrefação de ostras e doenças de ostras provocadas por cogumelos; crustáceos e moluscos guardados em geladeiras bolorentas.

Lista das espécies de moluscos comestíveis da Bahia de Guanabara. Lista das espécies de crustáceos comestíveis da Bahia de Guanabara.

Veiculação de micro-organismos patogênicos ao homem por intermédio das carnes de crustáceos e de moluscos: veiculação do vibrião colérico, dos bacilos tíficos e paratíficos e de germes do grupo *coli* e do gênero *Proteus*. Vitalidade dos bacilos tíficos nas ostras. Lista dos moluscos veiculadores dos agentes causadores das febres tíficas e paratíficas.

Conceitos antigos e modernos sôbre intoxicações por crustáceos; partidas de crustáceos salubres ou não conforme o local de venda. Estudos experimentais sôbre a "talassina" princípio tóxico existente em alguns crustáceos. "Mitilotoxina", intoxicações por mexilhões e outros acidentes incriminados aos moluscos. Enterotoxina estafilocócica em ostras.

Métodos de determinação da salubridade dos moluscos; verificações nas ostras brasileiras. Depuração dos crustáceos e moluscos poluidos: fervura, transporte para locais salubres, tratamento pelas soluções cloradas. Estabulação de caranguejos denominados vulgarmente de "guaiamus" e "ussás".

CONCLUSÕES

1. O autor verificou que o método que convem para atestar a salubridade das ostras brasileiras é o da *American Public Health Association* que dá como máximo tolerável 50 (cinquenta) unidades de poluição.
2. Verificou que, por vêzes, aparecem no mercado do Rio de Janeiro ostras com 400 e até 500 unidades de poluição.
3. Examinou ostras provenientes de Paquéta e da Escola de Pesca Darci Vargas na Marambaia e verificou que as partidas que fôram examinadas estavam sempre com menos de 41 unidas de poluição.
4. Examinou mexilhões da antiga Ilha de Villegaignon e verificou que estes apresentavam ora mais, ora menos de 50 unidades de poluição, condicionado pelas circunstâncias locais, pelos movimentos das correntes e marés.
5. Reviu a bibliografia sôbre o assunto e observou que não há estudos sôbre "mitilotoxina" em mexilhões brasileiros, embora exista a tradição popular, entre os pescadores de que os mexilhões do Rio de Janeiro que crescem em suportes de cobre são perigosos à saúde.
6. Os processos de depuração dos crustáceos empregando soluções cloradas não deram ainda resultados práticos. O autor observou que o processo de depuração que dá bons resultados é o que o povo do litoral faz com os caranguejos *Cardisoma guanhumi*.
7. O autor não tem notícias que haja no Rio de Janeiro crustáceo que ingira vegetais tóxicos para o homem.
8. O autor apresenta a lista das espécies de crustáceos e moluscos comestíveis do Rio de Janeiro.

SUMMARY

Recording main medical publications on Hygiene of *Mollusca* and *Crustacea*. Food-poisoning. Decomposing oysters, and shell-fish sickness by fungi.

Catalogue of eatable *Crustacea* and *Mollusca* of Rio de Janeiro.

Significance of *Mollusca* and *Crustacea* in the spread of diseasses.

Longevity of *Vibrio comma, Eberthella typhosa, Salmonella schottmuelleri, Salmonella paratiphi, Escherichia coli* in oysters, Microorganisms in marked oysters. Comparison old written papers with moderns publications on food-poisoning by *Crustacea* and *Mollusca*. Crustaceous — talassin, mitilotoxin, staphylococci enterotoxin in shellfishes products. Bacteriological exa-

mination of shellfishes: Houston's, Klein's, and Eyre's methods. American Public Health Association Method for examination of oysters. Purification of *Mollusca* and *Crustacea*: bubling, floating, transplanting, chlorination. Purification of great land crab *Cardisoma guanhumi* and the mangrove crab *Ucides cordatus*.

CONCLUSIONS

1. The author adoptes the *American Public Health Association* method for examination of oysters.
2. The author has verified sometimes oysters testing score 400 and score 500 in the Rio de Janeiro Market.
3. Testing Paquéta and "Escola de Pasca Darci Vargas", em Marambaia oysters, the author found score 41 or under 41.
4. Testing muscles of antique isle Villegaignon the author found score more or less than 50, imposed by sea conditions at local: sea-flowings, tides.
5. The fisherman tell that muscles growing in copper staker are poisonous.
6. The purification of great land crab *Cardisoma guanhumi* and the mangrove crab *Ucides cordatus* made by the littoral populations reaches goods results.
7. In Baia de Guanabrara thère is no crab ingestint toxic vegetal at man.
8. A catalogue a of eatable *Crustacea* and *Mollusca* fished in Baia de Guanabara.

BIBLIOGRAFIA

1. Alford. J. A. & Tobin & M. Cleskey,
   1942. Bacterial spoilage of crab — meat. Food — Res., 7; 353-359.
2. Andrews, F. T. & Hewlett, T. & J. Eyre, (*)
   1924. Report on the bacteriological standards employed by the Worshipful Company of Fishmongers in the control of shellfish in the London markets. Court of Fish : 3 Jul. 1924.
3. Bacon, J. E. & E. G. Dplegate,
   1928. Effect upon hibernating Delaware bay oysters when transfered to water storage. Publ. Health News 13 : 222-239.
4. Ballivet, (*)
   1907. Note sur les accidents observés à Gex à la suite de l'infection d'huitres de Cette. Lyon Medical : 883.

5. Bayllac,

1907. Toxité des liquides des huitres. C. R. Soc. Biol.: 284.

6. Bayllac,

1907. Composition chimique des liquides d'huitres. C. R. Soc. Biol.: 250.

7. Beard, P. J. & N. F. Meadowcroft

1935. Survival and ate of death of Intestinal bacteria in sea water. Amer. J. Publ. Health, 25; 1023.

8. Belding, Marston, Hooker, Dalsymple, Bill & Derow.

1938. A textbook of Med. Bacteriology (Food Bacteriology: 530-543). New York.

9. Bidault,

1922. Les moisissures des viandes congelés. Rev. Gener. du Froi, 7, 246. Offic. Inter. Hyg. Publ.; 14.

10. Bierry, R. & B. Gouzon.

1939. Les huitres de consomation.
Paris, 136 págs. J. B. Ballière & Fils.

11. Bigger, J. W. (*)

1928. Bacteriological control of shell-fish J. State Med., 36, — 638-641.

12. Bodin, E.

1912. Stabulation des huitres dans l'eau de mer artificielle filtrée.
C. R. Acad. Sci., 154; 446-447.

13. Bordenne, U. Z.

1910. Les ostriche como mezzo di diffuzione del germo della febbre tifoide.
Giorn. R. Soc. Ital. d'Igiene, (30 novembre).

14. Boyce & Herdmann,

1896. On cysters and typhoid: An experimental inquiry into the effect upon the cysters of various external conditions, including pathogenic organisms.
(*) Report. Brit. A. A. S. (London) 65, 753. Proc. Royal Soc., 64: 239-241 (1899).

15. Boyé.

1911. Traité de Pathologie Exotique sur la direction de C. A. Grall et Ciarac.

16. Branden, F. V. & J. Geens.

1935. Enquette sur l'Histoire Huistrière "Ostrea" a Nieuport-Ville.
Rev. d'Hyg. Med. Prev. 57, (5); 361-371.

Nota — As publicações assinaladas com asterisco (*) não puderam ser consultadas no original.

17. Brian.

1912. Les ostréiculteurs de Morbihan; Reunion Sanitaire Provinciale de 1912. Rev. d'Hyg. Pol. San., 34, 1437.

18. Brisou, J. (*)

1933. Recherches sur l'etat de contamination des huîtres livrées á la consonantion bordelaise.
(These, Bordeaux).

19. Broadbent,

A note of the transmission of feber by oysters.
Brit-Med. J., 61.

20. Brocchi, (*)

1898. Sur la nocivité des huitres et des moules These, Paris.

21. Brooks, P. B.,

1916. An outbreak of typhoid attributed to infected cysters.
Amer. Med. Assn., 66 : 1445.

22. Buchanan, G. S. & S. B. Schryner,

1909. Rept. Loc. Gov. Board (Sur la presence d'étain dans certaines conserves alimentaires)
Off. Intern. d'Hyg. Publ., 1, (8) : 754.

23. Bulsrode, T. (*)

1902. 03-04 — Report on an alleged oyster borne enteric fever and other illness following the mayoral banket of Winchester and Southampton and upon enteric fever occuring simultaneosly elsewhere and also asdribed to oysters. Loc. Gov. Board., Ann Rept., 33.

24. Bundesen, Herman N.,

1925. Typhoid epidemic in Chicago apparently due to oyster ourn.
Amer. Med. Assn., 84 : 641-650.

25. Caballero, J. G.

1942. Problema sanitario de las ostras.
Rev. Med. Chile, 70 : 260-263.

26. Carrieu.

1908. Formes cliniques de la fièvre typhoide causée par les huitres.
Congrès Francais de Medicine.

27. Casey, E.,

1894. A case of oyster poisoning.
Brit. Med. J., 463.

28. Chantemesse,

1896. Transmition de la fièvre typhoide par huitres.
Bul. Acad. Med. Paris, 2 Jun.

29. Chapman & Linden,

1926. Lead in Crustacea. Engl. Publ. Health Rept.

30. Chatin, J.,

1896. Nocivité des huitres.
Bul. Acad. Med. Paris, 626.

31. Chevalier & Duchesne,

1851. Memoire sur les empoisonnements par les huitres, les moules, etc.
Ann. d'hyg. (1.ª), 10 : 387.

32. Churchill, (*)

1919. The oyster and the oyster industry of the Atlantic and Gulf Costs.
U. S. Comm. Fish. Rept.

33. Cienfuegos Cuebos A. A.

1922. Intoxicaciones alimentares.
Trat. Ibero-americ. Med. Int. 3 : 33-40.

34. Committee of American Public Health Association of American Water Works Association & American Chemical Society.

1925. Standards Methods for the Examination of Water and Sawage, 6th ed., New York. 119 pág.

35. Committee on Standards Methods, 1

1922. Report on the Standard Methods for the Bacteriological Examination of the Shellfish.
Amer. J. Public Health, 12 : 574-576.

36. Coon, H. W., (*)

1894. The oyster epidemis of typhoid feber at the Wesley University.

37. Coon, H. W., (*)

1894. New York Med. Record., 21 : 743.

38. Coon, H. W., (*)

1894. Weekly Abst. San. Repts., 9 : 1172.

39. Coste, (*)

1858. Rapport a S. M. l'Empereur sur l'Etat des huitrières du littoral de la France Moniteur Universel, 28 juin.

40. Crouzon & de Sèze,

1928. Une petite epidemie de fièbre paratyphique — B observée dans un millieu hospitalier chez des sujets recemment vaccinés.
Bul. Mem. Soc. Méd. Hosp. Paris, 52 : 645-641.

41. Davison, E. & G. M. Dack,

1942. Production of *Staphylococcus* enterotoxin in canned corn, salmon, and oysters. Food Res., 7, (1) : 80-84.

42. Dogson, R. W., (*)

1928. Report on mussel purification.
Minist. Agric. Fish., Fisheries investigations.
H. M. Stat. Off. Adastral House Kingsway, 10 (2) : 1, London W. C. 2.

43. Domergue — Fabre,

1912. Nouvelles experiences sur l'epuration bacteriologique des huitres en eau filtrée.
C. R. Acad. Sci., 154 : 1257-1259.

44. Drouineau,

1912. Reunion Sanitaire Provinciale.
Rev. d'Hyg. Pol. San., 33 : 1435.

45. Dubreuil, G.,

1925. L'endemie typhique du littoral français.
Acad. Med. Paris, 9 juillet.

46. Dubreuil, G.,

1936. L'endemie typhique et paratyphique en France.
Rev. d'Hyg., 58 : 321-370.

47. Eade, F.

1895. Typhoid feber and oyster and other moluscs.
Brit. Med. (1) : 121.

48. England Public Health Report. (H. M. Stationary Office).
Anual Report of the Chief Medical Officer of the Ministry of Health.

49. Eyre, J. W. H.

1902. Bacteriological Technique, Third. edition. Baillière, Tyndall and cox. London (Examination of oysters : 553-461).
1906.
1913.
1915.
1930.

50. Fabre, H. B.,

1930. Report of a small outbreak of food poisoning on board the "U. S. S. Patoka" attributed to crawfish.
U. S. Nav. Med. Bull., Washington 28 : 511.

51. Fabre-Domergue

1910. Sur la stabulation des huitres en eau filtrée.
C. R. Acad. Sci. (24 Cut).

52. Fabre-Domergue

1910. Sur la nourriture de l'huitre et le mècanisme de sa contamination en eau souillée.
C. R. Acad. Sci., 151, (19) : 829.

53. Fabre-Domergue

1912. C. R. Acad. Sci., 154 : 1257-1259.

54. Fischer, L. M.

1927. Shellfish Sanitation.
Publ. Health. Rept., 42 : 2291-2300.

55. Fitzgerald, G. A.,

1930. Amelioration et verification de qualité dans l'industrie du poisson.
Office Inter. Hyg. Publique, 30, (12) :

56. Fitzgerald, G. A.,

1937. Amer. J. Publ. Health, 27, (11) : 1094-1101.

57. Foot, Chas. J. (*)

1895. A bacteriological study of oysters with special reference to them as a source of typhoid infection.
Med. News, 66, 320. (Philad.).

58. Frankland, G. C., (*)

1894. Oysters and typhoid.
Nature (London) : 415.

59. Freytag, C. J.,

1890. Ueber die Einwirkung concentrirter Kochsalzloesungen auf das Leben von Bacterien.
Archiv. fur. Hyg. 2 : 60.

60. Fuller, G. W., (*)

1905. Concerning sewage disposal from the stand point of pollution of cysters and other shellfish especially with reference to their transmission of typhoid febers. J. Franklin Instit, 160. (2) : 81-126.

61. Gaucher,

1907. Etude bacteriologique des huitres de Cette et de l'Etang de Thau.
Bull. Medic. 804.

62. Gaêtie,

1907. Sur la teneur en bacteries de quelques huitres.

63. Giaxa,

1889. Ueber das Verhalten einiger pathogener Mikroorganismen im Meerwasser.
Zeitschrift fur Hyg. 6 : 162.

64. Gibbard, J. — Campbell, A. G.

Needler, A. W. H. & Medcog, J. C.
1942. Effect of hibernation on content of coliform bacteria in oysters
Amer. J. Pub. Health., 32, (9) : 979-989.

65. Gorham,

1912. Seasonal variations in the bacterial content of oysters.
Amer. J. Pub. Health. 24, (2) :

66. Graucher, (*)

1898. Vente et colportage des huitres pour la consomation.
Recueil des Trauv. du Comm.
Cons. d'Hyg. Publ. de France., 18: 541.

67. Guillemin,

1912. Reunion Sanitaire Provinciale.
Rev. d'Hyg. Pol. San. 34 : 1436.

68. Houston, A. C.

1904. The bacterial examination of oysters and estuarial waters.
J. of Hyg., 4.

69. Houston, A. C.

1904. Fouth Report. of the Royal Sewage Comission of Great Britain.

70. Houston, A. C.

1905. Experiments and observations on the vitaly of the bacilles of typhoid fever.
Lancet, (2) 1114.

71. Hunter, A. C.,

1934. Neede for methods for the bacteriological examination of crustaces.
Amer. Publ. Health, 24, (3) : 199-202.

72. Hunter, A. C. & Harrison C. W., (*)

1928. Bacteriology and chemistry of oysters.
U. S. Dept. Agric. Tech. Bull., 64 : 1-75.

73 James Jonhstone.

1915. The method of cleansing living mussels from ingested sewage bacteria.
Rept. of Lancaster Sea Fish. Lale. Liverpool, 23: 57-108.

74. Jordan, E.,

1925. The typhoid Outbreak (Medical News, 125) Typhoid epidemic in Chicago apparently due to oysters.
J. Amer. Med. Assn., 84 : 641.

75. Klein E., (*)

1895. Report of experiments and observations on the bacillus of typhoid fever and of sewage microbes in oyster and other shellfish. Investigation on Behalf of the Worshipful Company of Fishmongers. London.

76. Klein E., (*)

1896. On oyster culture in relation to disease.
Rep. Loc. Gov. Board, 24.

77. Klein E., (*)

1904. The life-history of saprophytic and parasitic bacteria and their mutual relation.
Lancet, (26 Nov. (2) : 1477-1486.

78. Klein E., (*)

1905. Experiments and observations on the vitaly of the bacillus of typhoid fever and of sewage microbes in Lancet, (2) : 1113-1114.

79. Kinyoun, C.

1925. Viability of *bacillus typhosus* in stored shell oysters.
Publ. Health. Repts; 40 : 819-823.

80. Krumwiede, Park, Cooper, Brund, Tyler & Rosenstein.

1926. Purification of contaminated oysters in natural waters.
Amer. J. Publ. Health; 16 : 142-152.

81. Krumwiede, Park, Cooper, Brund, Tyler & Rosenstein.

1928. Amer. J. Publ. Health, 18 : 48-52.

82. Lacombe,

1912. Reunion Sanitaire Provinciale.
Rev. d'Hyg. Pol. San. 34 : 1435.

83. Lafosse,

1912. Reunion Sanitaire Provinciale.
Rev. d'Hyg. Pol. San., 34 : 1438.

84. Lancelin, R.,

1928. Du role des coquillages et en particullier des moules dans la persistence de l'endemicité typhique à Toulon.
Arch. Med. Pharm. Nav., 118 : 115-138.

85. Lancelin, R.,

1935. Coquillages et endemicité typhoidique á Toulon.
Bull. Acad. Med., 114 : 421-425.

86. Lavergne V. & H. Accoyer,

1935. Reflexions sur une épidémie d'infection paratyphique recidivante et localisé,
Rev. d'Hyg., 57 : 421-433.

87. Lavis, H. J. J., (*)

1895. A report on the possible conveyance of certain waterbone diseases, especialy typhoids feber by oyster and other moluscs.
Brit. Med. J. 711.

88. Laflaine,

1902. Huitres et fièvre typhoide.
Bul. Medic., (Juin).

89. Legendre, P.,

1921. Troubles et maladies de la nutrition.
Nouv. Trait. Med. Roger-Widal-Teissier, 7: 187-515.

90. Lemoins & Sacquepée,

1907. Fièvre typhoide d'origine ostreaire.
Bul. Medic.: 1082.

91. Levi de la Vida, (*)

1911. Il. Policlinico : 29 out.

92. Logrifoul & Roger,

1909. Huitres et infection paratyphoide.
Rev. Hyg. Pol. San. 61.

93. Loir A. & H. Legangneux,

1928. La fiévre typhoide an Havre em 1928.
Bul. Acad. Med. Paris, 101 : 113-115.

94. Loir A. & H. Legangneux,

1935. Fièvre typhoide et coquillages.
Bul. Acad. Med., Paris, 114 : 193-199.

95. Lumsden, Hasseltine, Leake & Veldee,

1925. Supp. n.° 50.
Publ. Health Rep., U. S. A.

96. Lustig, (*)

1888. Gli microorganismi del *Mytilus edulis*.
Arch. Sc. Medic., 12 : 17.

97. Mangenot,

1897. Fièvre typhoide causée par les huitres.
Bul. Acad. Med. Paris, 16 MAR.

98. Messer, Richard, & Reece,

Progress in oyster conditionning.
Publ. Health Rep. 52 : 1451-1460.

99. Moreau,

1907. Quelques cas de fièvre typhoide imputables aux huitres.
Arch. Hyg. Publ. Med. Leg., (Fev).

100. Mosny,

1899. Maladies provoquées para l'usages des mollusces; etude sur la salubrité des instruments ostreicoles.
Rev. d'Hyg. Pol. San.,

101. Mosny,

1901. Rev. d'Hyg. Pol. San, 12.

102. Mosny,

1904. Ann. d'Hyg. Publ. Med. Legal, 460.

103. Mosny,

1907. Des maladies provoquées par l'ingestion des molusques.
Rev. Hyg. Pol. San., 20, 1507.

104. Mosny,

1908. Rev. Hyg. Pol. San., 22: 102, 193.

105. Mosny,

1910. Ann. d'Hyg. Publ. Med. Legal, 329.

106. Netter, (*)

1890. Vente et consomation des moules en toute saison.
Recueil des Travaux du Comm. Consul.
d'Hyg. Publ. de France, 20, 78.

107. Netter,

1907. Sur la fièvre typhoide et les accidents infectieux consecutifs a l'ingestion des huitres.
Acad. Med. (Mai 1907).
Rev. Hyg. Pol. San.; 377.

108. Netter,

1907. Fièvre typhoide d'origine ostreaire.
Soc. Med. Hosp. Paris, (dec).

109. Newman, (*)

1904. Channels of typhoid infection in London.
The Practioner.

110. Newsholme,

1895. Shell fish and enteric diseases.
Brit. Med. J., 1285.

111. Nickerson, J. T. L., G. A. Fitzgerald & R. Messer,

1939. Health problems in packing crustaceans products.
Amer. J. Publ. Health, 24: (6).

112. Old, H. N. & Gill, S. L.,

1940. Typhoid fever epidemic caused by carries bottlegging oysters. Am. J. Publ. Health, 30: 633-640.

113. Oliveira, Lejeune P. H. de,

1940. Contribuição ao conhecimento dos crustáceos do Rio de Janeiro. Catalogo dos crustáceos da Bahia de Guanabara. Mem. Instit. Oswaldo Cruz. 35: 137-151 e 375-377.

114. Oliveira, Lejeune P. H. de,

1942. Nota sôbre a pureza das ostras do Rio de Janeiro. Rev. Brasil. Biol., 2 (2): 139-141.

115. Park, Williams, Krumwiede,

1924. Pathogenic Microorganisms.

116. Person Randolf, Gorhan, Pease, Round,

1922. Report on the Comittee on Standards Methods for the Bacteriological Examination of Shellfish.
Amer. J. Publ. Health, 12 : 574.

117. Pasquier, (*)

1818. Essai medical sur les huitres.

118. Peixoto, Prof. Afranio,

1930. Higiene Geral, 2 vol. in 8.
Livraria Francisco Alves.

119. Pennentier & Renard, (*)

1895. Rec. Commit d'Hyg. Publ. France, 135.

120. Perret, A. H.

1907. Contribuition a l'étude des poissons des actinies.
Théses, ser. I n.° 526, ordre 1270, presentées a la Fac. Sci. Paris, soutenies de 21 juin 1907. 95 págs.
Typographie Renouard.

121. Perry, C. A.

1928. Studies relative to significance of present oyster score.
Amer. J. Hyg., 8: 694-722.

122. Phelps, E. B. (*)

1911. Some experiments upon the renoval of oysters from polluted to impolluted waters.

123. Phelps, E. B. (*)

1911. Fishing Gas., 28; 705-708.

124. Pinard-Marcel

1922. Intoxication par le cuivre, le zinc, et l'etain.
Nouveau Traité de Medicine sous la direction de M. M. les profs. G. H. Roger, E. Vidal, P. J. Teissier.
Fsc. 6: 129.

125. Polak (*)

1897. The bacteriology of oysters.
San. Record (30 Abr.).

126. Pottier, *Rl*, (*)

1902. Les huitres comestibles et l'ostreiculture.
Encycl. Conn. Prat. Paris.

127. Ramaroni,

1897. Sur la cause probable de fièvre typhoide á Bastia.
Rev. d'Hyg. pol. San. 645.

128. Ramsey G. H. & G. F. Ginnes, & P. R. Neal.

1928. Outbreak of typhoid fever and gastroen attrobuted to consumption of taw oysters Publ. Health, Rep. 43; 2395-2405.

129. Reille, P.

1907. Huitres et fiévres typhoides.
Ann. Hyg. Pub. Med. Leg.
4, (8): 45.

130. Remlinger,

1902. Transmission de la fièvre typhoide par les huitres a Constantinocle.
Rev. d'hyg. Pol. San., 873.

131. Remlinger,

1908. C. R. Soc. Biol. Paris, 28 mars.

132. Roger & Widal,

1921. Papel das ostras. Rerefido por F. Widal, A. Lemierre, P. Abrami em "Frievres Typhoyde et paratyphoides" do Nouveau Traité de Medecine G. H. Roger, F. Vidal, pág. 38.

133. Rosenau, M. J.,

1927. Preventure Medicine Hygiene.

134. Round, L., (*).

1914. Contribuitions to the bacteriology of the oyster.
Spec. Rept. to Rhode Island Comm. of Shell fisheries.

135. Roure, M. C., (*)

1924. Della sterilisation de l'eau de mer et de l'epuration des huitres par le clore.
Montpelier. Thèse.

136. Sabrasès & Marcandier,

1907. Action du vin sur la Bacille d'Eberth. Ann. Inst. Pasteur.

137. Sacquepée,

1902. Les huitres et la fièvre typhoide.
Rev. Hyg. Pol. San., 24, (7).

138. Savage,

1914. The bacteriological examination of food and water.
Cambridge. Univ. Press.

139. Scherago & Weaver,

1938. Staphylococcus food poisoning from canned oysters. J. Bacteriol., 35 : 72.

140. Senne-Desjardins, (*)

1902. L'ostreiculture en France.
Thèse, Rennes.

141. Stcherback, A. E., (*)

1907. Poisoning with lobsters; acute polyneuritic ataxia, combined with acroneurits, partial disturbance of the sensation of movements.
Vrach. Gas. S. Peterb., 14: 285-317.

142. Simon, (*)

1822. Hygiene Rundschau: 1.° de Março.

143. Sourd, L. de

1922. Toxi-infections alimentaires.
Traite Path. Med. Therap. Appl., 22 (2): 23-50.

144. Stephen, Gage,

1910. Methods for testing shellfish pollution J. Inf. Dis.: 78-86. (15 Jan.).

145. Stiles, G. W., (*)

1912. Sewage polluted oysters as a cause of typhoid fever.
U. S. Dept. Ag., Bu. Chem. Bul., 156.

146. Tannikawa,

1937. Coli-group isolated from intestines of oysters. Arch. fuer Microb., 8: 288-306

147. Tanner, H.,

1904. Note on the absence of *bacillus coli* from the normal oyster.
Central J. Bakt., 34: 300.

148. Tanner, F. W.,

1932. The Microbiology of Foods. Twin City Printing.
Illinois. lst. edition. 768 pás.

149. Teissonnière, Maurice,

1936. Fièvre typhoide et coquilages sus la littoral méditerranéen. Bul. Acad. Med. Paris, 115, (16): 600-606.

150. Thompson, L. & F. W. Tanner,

1926. Toxine botulique dans les boites de conserves. Inf. Dis., 37.

151. Thorne, (*)

1896. On oyster culture in relation to disease. Rept. Loc. Govt. Board., 24.

152. Tonney, F. O. & White J. L.

1925. Viability of *Bacillus typhosus* in oysters during storage. J. Amer. Med. Assn., 84: 1403-1406.

153. Tonney, F. O. & White J. L.

1926. *B. coli* in marked oysters. Amer. J. Publ. Health, 16: 597-602.

154. Vincey, Paul,

1912. Les huitres et la fièvre typhoide à Paris. Rev. Hyg. Pol. San., 34: 1426-1439.

155. Wachter, L. M.,

1925. The laboratory aspects of oyster pollution Amer. J. Publ. Health, 15: 1066-1068.

156. Wells, W. F.,

1916. Artificial purification of oysters. Publ. Health Rep., 31: 1848-1859.

157. Wells, W. F.,

1923. Purified oysters. Nat. Health 5: 881-883.

158. Wells, W. F.,

1929. Chlorination as a fator of safety in shellfish production. Amer. J. Publ. Health, 19: 72-79.

159. Wood, C., (*)

1896. Circunstances under which infections diseases may be produced by oysters. Brit. Med. J.

160. Wright, W. E.

1936-1937. Shellfish claeaning plants, (section of the comittee on shellfish of the Public Health Engineering Section of the Amer. Publ. Heelth Amer. Year-Book — 185.

161. Yasukawa, (*)

1931. Jap. J. Exp. Med., 9 : 385-401.

162. Yung-Tsu, T.

1927. Anscheinende Cholera-Infection durch Krabbengenuss. Arch. Gür Schif. Trop. Hyg., 31.

Estudo sôbre a célula leprosa do rato

por

Hermínio Linhares

Foi VIRCHOW (17) quem primeiro fez um estudo minucioso sôbre as células leprosas. A origem dêstes elementos foi por muito tempo discutida, mas atualmente parece fora de dúvida que êles pertencem ao sistema retítulo endotelial.

GUJO (4) inoculou carmim e azul Tripan na pele atingida pela lepra e viu que as células leprosas tomavam o corante. Juntamente com CHUMA (2,5) injetou, em nodulos leprosos cutâneos, carmim e tinta da China e a maioria das células componentes do leproma tomou os corantes, vendo-se nelas grânulos de corante e bacilos. HERXHEIMER (7), em seu clássico trabalho sôbre a célula leprosa, diz que elas provém de elementos do sistema retículo endotelial; RIECKE (13) concorda com aquele autor, mas acrescenta que células endoteliais também podem conter bacilos, sem contudo se transformarem em células leprosas. TIMOFEJEWSKY (15) demonstrou que, em cultura de tecido leproso, apenas os macrófagos continham microorganismos, enquanto os fibrocitos se mantinha livres; êle teve a impressão de que os bacilos não exerciam ação tóxica sôbre as células.

Na lepra murina, STEFANSKY (14) descreveu as células como elementos de aspecto endotelial e MARCHOUX e SOREL (10) dizem que o bacilo é um parasito das células mesodérmicas nas quais se multiplica com extraordinária abundância. OLIVER (11) inoculou azul Tripan por via subcutânea em ratos prèviamente infetados e verificou que a célula leprosa era derivada de histiocitos. Nos cortes corados pela fucsina, os bacilos eram encontrados nos histiocitos, os quais tomavam coloração vital. HENDERSON (6) também observou, na pele e gânglios de ratos infetados e inoculados com azul Tripan, que as células que recebem o corante são as mesmas que fagocitam os bacilos. As únicas áreas nas quais os corantes e os bacilos não estavam associados, eram nos nodulos lepromatosos densos em que o corante foi aparentemente incapaz de penetrar. LOWE (9) chegou aos mesmos resultados. PINKERTON e SELLARDS (12), fazendo um estudo sôbre a citologia da lepra murina, concluem que as células leprosas são derivadas, na grande maioria, das células mesenquimais pertencentes ao sistema retículo endotelial. AFANADOR (1)

inoculou tinta da China na veia de ratos e 24 horas depois administrou pela safena 0,3 cc de emulsão de leproma murino. Êle verificou que a fixação dos bacilos era mais lenta nêstes animais do que em normais; o fígado era o órgão que fixava mais germes; houve eliminação de bacilos pelos rins e intestinos, a qual era maciça mas durando apenas dois dias nos ratos que sofreram bloqueio, ao passo que nos controles durou 10 a 12 dias, sendo porém discreta.

Após termos descrito a anatomia patológica da lepra murina, resolvemos estudar a origem da célula leprosa, do mesmo modo que os autores anteriores. Para tanto, separamos um lote de 11 ratos, — os quais se apresentavam em estado adiantado da doença — e o dividimos em dois grupos.

No primeiro, composto de 5 animais, foi usado litio carmim. Dissolvemos 2,5 gs. de carmim Grüber em uma solução aquosa saturada, a frio, de carbonato de litio e aquecemos em banho maria; filtramos sempre no momento de usar. Tais ratos foram inoculados quatro vêzes, com intervalos de 2 a 3 dias; na primeira vêz com 1 cc subcutâneo, não muito distante do tumor, na segunda e terceira vez com 0,5 cc intraperitoneal e na quarta com 0,3 cc no coração. Três foram sacrificados 3 dias após a última inoculação; os esfregaços, corados pelo Ziehl-Neelsen, demonstravam grande número de bacilos no tumor, gânglios, pele e mesmo nos órgãos internos. Outro foi sacrificado no quarto dia e o último no quinto, apresentando também ambos, uma grande infecção generalizada.

Para o segundo lote preparamos, em solução fisiológica, uma suspensão a 1% de azul pirrol. Aí as inoculações variaram: 2 ratos receberam 1 cc de azul por via intraperitoneal no primeiro dia; mais duas inoculações com 0,5 cc pela mesma via com intervalo de 2 a 3 dias, e por fim 0,3 cc intracardiaca. Dois outros foram inoculados, na primeira vêz, com 1 cc por via subcutânea, sendo as vêzes subsequentes idênticas ao processo anterior. Por fim 2 ratos foram inoculados dentro da massa tumoral axilar com 1 cc do corante durante seis dias consecutivos. Quando sacrificados, de modo idêntico ao primeiro grupo, todos mostraram um processo infeccioso generalizado.

Colhemos pedaços de tumor, pele, gânglios e órgãos internos, os quais foram fixados em Zenker sem ácido acético e em formol a 10%. Foram feitos cortes por congelação e inclusão em parafina. Usamos os seguintes processos de coloração: Ziehl-Kringmüller, Hematoxilinaeosina, tricrômico de Masson (substituindo o azul por verde luz), método de MALLORY (fucsina-azul de metilenio), vermelho escarlate e coloração pela brasilina.

As lesões encontradas foram idênticas às já descritas por nós (8) e agora nos deteremos nos novos achados, fazendo uma descrição em conjunto pois, tanto para o litio carmim como para o azul pirrol, os resultados são os mesmos.

No tecido subcutâneo, onde se veêm massas de células leprosas formando nodulos maciços, as partículas de corante são sempre pouco abundantes e se encontram apenas nas células da periferia dos nodulos. Parece que as grandes células leprosas, com núcleo excêntrico, às vêzes picnótico, tendo no protoplasma um grande número de bacilos, perdem o poder fagocitário. Entretanto, aquelas isoladas com pequeno número de bacilos ainda conservam o poder fagocitário englobando as partículas de corante. Quando se faz a coloração pelo método de Ziehl, observam-se então, dentro do citoplasma, pequeninos grânulos azuis, no caso do pirrol e bacilos em vermelho formando um contraste nítido. Bacilos encontrados extracelulares são provavelmente devido à ruptura das células leprosas. Com a coloração vital verifica-se que os mesmos elementos que englobam os bacilos são os que apresentam os grânulos de corante. Os histiocitos do tecido conjuntivos frouxo apresentam o citoplasma reticulado e os elementos são mais nítidos do que nos fibrocitos. Êles têm tamanho variável e núcleo em geral excêntrico. São os elementos mais abundantes e mais importantes nos granulomas pois vão transformar-se, uma vez tendo fagocitado bacilos, em células leprosas, mononucleadas, de citoplasma abundante, espumoso, com malhas de estrutura irregular. Nos casos mais antigos êstes histiocitos transformam-se em células epitelióides, grandes, poliédricas, com protoplasma abundante, núcleo grande, vesiculoso, claro, o qual geralmente contém um ou mais grânulos de cromatina; têm às vêzes vários núcleos, sendo então denominadas células epitelioides gigantes. Hoje acredita-se que as células gigantes, tipo Langhans, ovóides, com núcleos periféricos, sejam devidas a um crescimento exagerado das células epitelióides, multinucleadas, nas quais os núcleos tendem a se acumularem na periferia, ou podem ser explicadas pela fusão de diversas células.

Os mesmos fatos observados por Oliver (11) foram verificados por nós. Quando é feita inoculação subcutânea, nos locais afastados do granuloma, vê-se grande número de histiocitos com grânulos no seu protoplasma. Já nas circunvizinhanças da lesão leprosa, os histiocitos com alguns bacilos no seu protoplasma, se apresentam com algumas transformações que os mudarão em células leprosas. O bacilo uma vez englobado não sofre um processo destrutivo e, pelo contrário, parece que o citoplasma é um ótimo meio de cultura, havendo proliferação abundante, transformando a célula num grande depósito de bacilos que comprimem o núcleo,, distendem as paredes de células e provocam a ruptura. Nos histiocitos com poucos bacilos, que conservam ainda suas características básicas, isto é, a capacidade de fagocitar, vêem-se também grânulos de corante. À medida que os bacilos aumentam, que no exame microscópico mais nos aproximamos da massa granulomatosa, o número de grânulos diminue, sendo quasi impossível evidenciá-los em plena

massa do leproma, onde as células, pràticamente perderam todo o poder fagocitário. Há sempre uma relação entre corante, isto é, o número de grânulos

$$\frac{\text{corante}}{\text{bacilo}}$$

de corante no citoplasma é inversamente proporcional ao número de bacilos; quanto maior o número dos bacilos menor o de corante.

Com a coloração pela brasilina forma-se um belo contraste entre a célula em vermelho-alaranjado e os grânulos de azul pirrol.

Em preparados coroados pelo vermelho escarlate, para verificação de gordura, vê-se que as células leprosas contém lipoides, o aspecto da coloração amarelo-acastanhado sendo muito semelhante ao observado na lepra humana; as veses as células tomam a cor amarela clara, dando a impressão de se tratar de acido graxos e gorduras neutras. Já haviamos averiguado por exames micropolariscópicos de cortes de tumores e inexistência de lipóides birefrigentes (16).

Não conseguimos evidenciar processos de mitose nas células leprosas e a formação lenta dos nodulos sugere que o processo localizado aumenta gradativamente pela chegada de histiocitos móveis que englobarão os bacilos livres oriundos da ruptura de células. Entretanto, *Pinkerton* e Sellards (12) com o pêso de sua autoridade, dizem que com a progressão das lesões formam-se novas células leprosas, não apenas dos elementos mesenquimatosos locais, mas também por divisão mitótica das células leprosas preexistentes, de modo que o proceso é até certo ponto semelhante ao de um neoplasma; as células leprosas são encontradas em mitose com frequência suficiente para sugerir que os bacilos, ou algum produto de seu metabolismo, estimulam a divisão celular.

Os histiocitos móveis, uma vêz tendo englobado bacilos, parece que perdem sua mobilidade, transformando-se em células leprosas.

Se bem que os bacilos possam ser encontrados ocasionalmente em elementos celulares não pertencentes ao sistema retículo endotelial, como nós mesmo assinalamos, em células da camada de Malpighi ou em elementos de tecido conjuntivo fixo e células endoteliais dos vasos sanguineos, não há entretanto trasformação em células leprosas e o número de bacilos no citoplasma é sempre reduzido e não se encontram grânulos de corante.

A célula leprosa do rato tem certa semelhança com a descrita por Wirchow para os casos humanos; o citoplasma é volumoso, com o aspecto mais grosseiro do que na lepra; ás vêzes, como na lepra humana, há poucos vacuolos ou apenas um grande ocupando a mór parte do citoplasma. Em ambas nunca o núcleo é invalido podendo se apresentar entumescido, claro, geralmente excêntrico com um a dois nucleolos.

A maior diferença observada entre as duas células não é propriamente em sua estrutura, mas na disposição dos bacilos, que raramente se agrupam, na lepra dos ratos, com o aspecto uniforme e caracteristico da lepra humana; é verdade que muitas vêzes chamamos de globias os grupamentos intracelulares dos bacilos nas células leprosas do rato, mas estas, pela disposição desordenada dos bacilos são com facilidade distinguidas das típicas globias da lepra humana, apresentando-se sôbre a forma de roseta, descritas em detalhes por Cowdry e Ravold (3).

Nos gânglios linfáticos também foi possível observar os grânulos de corante nas células reticulares e ás vezes o corante e os bacilos juntos num mesmo elemento. São células que se transformam nas células leprosas ganglionares.

Nos órgãos internos como pulmão, fígado, baço, os resultados são sempre idênticos, isto é, verifica-se que as células com capacidade fagocitária para os grânulos de litio carmim e azul de pirrol são as únicas que englobam os bacilos, havendo nelas multiplicações e reunião de vários elementos constituindo nodulos leprosos. Parece-nos que estas células contendo bacilos perdem rápidamente o poder fagocitário sendo muito mais fácil, por exemplo, encontrar-se células de Kupffer sómente com grânulos ou sómente com bacilos, dc que ambos ac mesmo tempo.

SUMÁRIO

Onze ratos com lepra murina em periodo muito adiantado, foram inoculados várias vezes com litio carmim e azul pirrol. Foi possível evidenciar nestes onze ratos que as células que englobam as partículas do corante, na coloração vital, eram as mesmas que continham os bacilos. Vêem-se mesmo num único elemento celular os grãos de corante e os bacilos. Em cortes da pele é possível observar-se a transformação dos histiocitos do tecido conjuntivo frouxo em células leprosas. Em órgãos internos examinados, sempre se verificou que a célula leprosa provinha de um elemento do sistema retículo endotelial e grânulos de corante juntamente com bacilos foram encontrados nas células do retículo-endotélio do baço, medula óssea gânglios linfáticos, células de Kupffer e histiocitos do pulmão.

SUMMARY

Eleven infected rats with murine leprosy were inoculated several times with lithiocarmine and pyrrole blue. One can see that the same cells which phagocytize the dye granules, in vital staining, were the same which contained bacilli. One can observe in the cell both dye particles and staining bacilli to-

gether. It is possible to see the transformation of the histiocytes into lepra cells. In inner organs examined we have always ascertained that the lepra cell was derived from an element of the reticuloendothelial system and the dye particles and bacilli were seen in the cells of reticulo-endothelium of the spleen, bone marrow, lymph nodes, Kupffer cells and lung histiocytes.

BIBLIOGRAFIA

1. Afanador, A.

1934. Inoculation du bacille de Stefansky dans les veines des rats bloqués. Compt. rend. Soc. biol., 116 : 1260-1261.

2. Chuma, M. e Gujo, K.

1923. Eine histologische Untersuchung über das Leprom mittels Vitalfärbung. Wirchow's Archiv, 240 : 469-482.

3. Cowdry, E. V. e Ravold, A.

1938. Rossettes in rat leprosy. Puerto Rico. J. Pub. Health Trop. Med., 14: 3-10.

4. Gujo, K.

1921. Leprazellen und vitale Färbung. Tokio Iji Shimshi, n.° 2241 : 795-802.

5. Gujo, K. e Chuma, M.

1921. Histologische Studien über Lepragewebe mittels vitaler Färbung. Osake Igaku Kwai Zasshi, 20 : 1124-1232.

6. Henderson, J. M.

1928. A contribution to the pathology of cutaneous rat leprosy. Ind. J. Med. Res., 16 : 1-6.

7. Herxheimer, G.

1923. Über die Leprazellen. Virchow Arch., 245 : 403-447.

8. Linhares, H.

1942. Contribuição ao estudo da patologia da lepra murina. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 37 : 543-581.

9. Lowe, J.

1934. Studies in rat leprosy. Ind. J. Med. Res., 22 : 187-198.

10. Marchoux, E. e Sorel, F.

1913. La lepre des rats. Lepra Bibliot. Internat., 13 : 171-206.

11. Oliver, J.

1926. The origin of the lepra cell. J. Exp. Med., 43 : 233-239.

12. Pinkerton, H. e Sellards, A. W.

1938. Histological and cytological studies of murine leprosy. Amer. J. Path., 14 : 435-442.

13. Riecke, H. G.

1928. Über einen Fall von Lepra tuberosa mit besonderer Beteiligung der Kehlkopfs und über die Beziehungen zwischen Leprazelle und Reticuloendothel. Beit. z. path. Anat., 80 : 201-216.

14. Stefansky, W. K.

1903. Eine lepraähnliche Erkrankung der Haut und der Lymphdrüsen bei Wanderratten. Centblt. f. Bakt., 33 : 481-487.

15. Timofejewsky, A. D.

1929. Explantationsversuche von leprösen Gewebe. Arch. f. Exp. Zellforschung, 9 : 182-202.

16. Villela, G. G. e Linhares, H.

1943. Lipídeos na pele de ratos com lepra murina. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 38 : 61-64.

17. Virchow, R.

1864-65. Die krankhaften Geshwülste, vol. 2.

Não receptividade do pombo doméstico à infecção por Schizotrypanum (*)

por

Emmanuel Dias

A imunidade das aves à infecção por *Schizotrypanum* é um fato geralmente admitido, pôsto que ainda insuficientemente provado. Nas escassas referências que se encontram na literatura à inoculação dêstes vertebrados com o agente da tripanosomose americana, o contrôle dos resultados negativos é quase sempre precário, não permitindo excluir a possibilidade de uma infecção inaparente.

As inoculações que relataremos a seguir, praticadas em pombo doméstico (*Columba livia domestica*) e controlada por xenodiagnósticos em série, além de documentarem de modo satisfatório a não receptividade desta ave à inoculação pelo esquizotripano, têm importância prática atual. De fato, na alimentação de barbeiros para criação "limpa" no laboratório para fins de xenodiagnóstico (método em grande voga para o diagnóstico de casos crônicos de moléstia de Chagas), o pombo é um animal correntemente empregado (1,2); cumpre, portanto, bem estabelecer a sua imunidade natural ao agente etiológico, para saber se um pombo usado prèviamente na alimentação de barbeiros infetados, e exposto, por conseguinte, à infecção, poderá servir para nutrir insetos "limpos", sem risco de os contaminar.

INOCULAÇÕES

No dia 16 de outubro de 1942, dois pombos (n.º 1.796 e 1.797) foram inoculados por via subcutânea, na face externa de uma das coxas, com vários centímetros cúbicos de sangue de cobaia (n.º 1.734) intensamente infetada com uma amostra de *Schizotrypanum* isolada de caso agudo de moléstia de Chagas na Venezuela (3). Poucos exames de sangue foram feitos a fresco, sempre negativos, mas o xenodiagnóstico com barbeiros garantidamente puros foi praticado repetidamente e a curtos intervalos, durante pouco menos de um mês. Um dos pombos morreu em 28 de outubro de 1942, o outro em 10 de novembro de 1942.

As primeiras provas foram feitas no mesmo dia da inoculação, 2-3 horas em seguida a esta. Outros detalhes sôbre os xenos acham-se abaixo especificados, tendo sido negativos todos os resultados.

XENODIAGNÓSTICOS

POMBO N.º	DATA XENO	ESPÉCIE	N.º INSETOS	DATA DISSECÇÃO	RESULTADO
1.796	16–10–42	R. *prolixus*	5	4–12–42	Negativo
1.797	16–10–42	*R. prolixus*	5	18–12–42	Negativo
1.796	17–10–42	*T. infestans*	1	4–12–42	Negativo
1.796	17–10–42	*R. prolixus*	2	4–12–42	Negativo
1.797	17–10–42	*R. prolixus*	4	4–12–42	Netagivo
1.796	19–10–42	*R. prolixus*	3	21–12–42	Negativo
1.797	19–10–42	*R. prolixus*	6	21–12–42	Negativo
1.796	20–10–42	*R. prolixus*	3	21–12–42	Negativo
1.797	20–10–42	*R. prolixus*	2	21–12–42	Negativo
1.796	21–10–42	*R. prolixus*	4	23–12–42	Negativo
1.797	21–10–42	*R. prolixus*	3	23–12–42	Negativo
1.796	22–10–42	*R. prolixus*	3	8– 1–43	Negativo
1.797	22–10–42	*R. prolixus*	2	8– 1–43	Negativo
1.796	27–12–42	*R. prolixus*	2	8– 1–43	Negativo
1.797	27–10–42	*R. prolixus*	3	8– 1–43	Negativo
1.797	10–11–42	*R. prolixus*	3	22– 1–43	Negativo
1.797	10–11–42	*P. megistus*	2	22– 1–43	Negativo
1.797	10–11–42	*T. infestans*	1	5– 2–43	Negativo

Foram portanto empregados 54 barbeiros que, dissecados a prazos convenientes após a sucção dos pombos inoculados, não adquiriram parasitismo por flagelados. O *Rhodnius prolixus* foi de preferência empregado, por ser a espécie mais comum na Venezuela, donde proveio também o esquizotripano com que trabalhamos.

(V. Dias, 1940, pág. 336: *"Deve preferir-se, para o xenodiagnóstico em determinada região, uma espécie local, ou melhor, o transmissor natural mais importante da moléstia, nessa região*).

Pelos resultados acima vê-se que não se pôde demonstrar, pelo xenodiagnóstico, a presença de parasitos no sangue dos pombos injetados com grande número de esquizotrípanos, nem mesmo nas primeiras horas e dias após a inoculação. Estas experiências são, pois, sugestivas de completa imunidade natural da *Columba livia domestica* à infecção esquizotripanósica.

SUMÁRIO

Não foi conseguida a infecção de dois pombos por inoculação subcutânea de numerosas formas sanguícolas de *Schizotrypanum*, tendo sido negativos todos os xenodiagnósticos praticados desde três horas até 25 dias após a inoculação.

SUMMARY

Massive inoculation of two pigeons with blood forms of *Schizotrypanum* (human strain) did not produce infection, xenodiagnostics being negative from 3 hours to 25 days after inoculation.

REFERÊNCIAS

1. Dias, Emmanuel

1938. Criação de triatomideos no laboratório. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 33 (3) : 407-412.

2. Dias, Emmanuel

1940. Técnica do xenodiagnóstico na moléstia de Chagas. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 35 (2) : 335-342.

3. Dias, Emmanuel & Torrealba, J. F.

1943. Verificação de flagelados semelhantes ao *Trypanosoma rangeli* Tejera, em *Rhodnius prolixus* alimentados em caso agúdo de doença de Chagas na Venezuela. Considerações sôbre a natureza dêste protozoário. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz 39 3) : 256-278.

Ensaios terapêuticos com Penicilina
I - Bouba (Framboesia, Pian, Yaws)

Nota prévia

pelos Drs.

A. M. da Cunha — F. Nery Guimarães
A. E. Arêa Leão — Humberto T. Cardoso

(Com 4 estampas e 1 quadro no texto)

Nesta nota queremos relatar os primeiros resultados obtidos no tratamento de 7 doentes de bouba (*Framboesia, pian, yaws*) com o emprêgo de doses relativamente pequenas de Penicilina. A realização dêste trabalho foi possível graças à produção dessa substância no Instituto e à boa vontade e incentivo do seu Diretor, Dr. Henrique Aragão.

Com exceção de 2, os pacientes pertencem a um grupo trazido de Rio Bonito (E. do Rio), foco endêmico da moléstia, o que foi facilitado pela Diretoria de S. Pública dêsse Estado. Todos os enfermos estão internados no Hospital Evandro Chagas e continuam em observação, o que perdurará pelos próximos 6 meses. Os casos observados são os seguintes:

Caso 1 — L. A. C., preto, masc., 17 anos, com 49 quilos, Framboesomas nas faces, coxas e nadegas. Cravos plantares e palmares. Úlceras nos pés. N. de lesões: 24. Pesquisa de *T. pertenue* positiva em várias lesões, inclusive nos cravos plantares. R. W. (++++), R. K. (++++). Total de injeções: 97. Ex. bacterioscópico negativo desde a 92.ª injeção. Nove dias depois da última injeção, o paciente queixou-se de prurido numa das úlceras podais recemcicatrizadas. Retirada uma crosta queratinizada que a recobria, encontrou-se minúscula zona com exsudato, o qual foi verificado conter treponemas. O paciente recebeu nova série de 60 injeções; esterilisando-se a lesão, a partir do 3.º dia. A cicatrização desta lesão foi auxiliada com aplicação tópica de "penicilina bruta" (2 ampolas).

Caso 2 — O. B., preto, masc., 13 anos, 32 quilos, Framboesomas nos braços, peito, nádegas, pernas e pés. Cravos plantares. N. de lesões: 15. Presença de *T. pertenue* positiva nas várias lesões pesquisadas. R. W.

(++++); R. K. (++++). Exame bacterioscópico negativo desde a 52.ª injeção. Total de injeções 56.

Caso 3 — M. C., preta, fem., 4 anos, 15 quilos, Framboesomas nos braços, nádegas, perineo e pé. N. de lesões: 8. Pesquisa de *T. pertenue* positiva. R. W. (++++) e R. K. (++++). Durante o tratamento, 2 acessos maláricos, (*P. falciparum*). Ex. bacterioscópico negativo desde a 36.ª injeção. T. de injeções: 48.

Caso 4 — J. A. C., preto, masc., 16 anos, 45 quilos, Framboesomas nas fossas nasais e pés. Cravos plantares. Úlceras nos pés. N. de lesões: 12. *T. pertenue* presente nas lesões cutaneas e mucosas. R. W. (++++) e R. K. (++++). Durante o tratamento o paciente teve 2 acessos de malária, (*P. falciparum*). Bacterioscopia negativa desde a 36ª. injeção. Total de injeções: 71. Do mesmo modo que o observado 1., êste paciente depois de 18 dias de terminado o tratamento apresentou uma recidiva. Uma das úlceras podais recemcicatrizadas, apresentou prurido e, em seguida, exsudação purulenta, a qual continha abundantes treponemas. Reiniciou-se nova série de injeções, tomando mais 62 ampolas. Na 12ª. injeção desta nova série a lesão estava cicatrizada. Nada obstante, foi escarificada v;rias vêzes, não tendo sido mais encontrados treponemas. A cicatrização desta lesão foi auxiliada com aplicações tópicas de "penicilina bruta" (3 ampolas).

Caso 5 — G. B., branca, fem. de 4 anos, 15 quilos, procedente de Parada de Lucas. (D. Federal). R. W. (++++) e R. K. (++++). Um total de 106 framboesomas de diferentes tamanhos espalhados em todo o corpo com exceção do peito e costas. *T. pertenue* presente nas várias lesões pesquisadas. Bacterioscopia negativa a partir da 155ª. injeção. T. de injeções 260. Nas últimas 6 lesões a cicatrizarem, foi feita aplicação tópica de "penicilina bruta" (7 ampolas).

JCaso 6 — Cecilia, b., 6 anos, fm., 18 quilos. R. W. positiva (++++) e R. K. positiva (++++). Presença de treponemas nas lesões pesquisadas. Pianomas na comissura labial esquerda, nas nádegas e no pé esquerdo. Submetida ao tratamento pelo Néosalvarsan, apresentou algumas melhoras, chegando mesmo a cicatrizar a lesão podal. Em seguida, não obstante o prosseguimento do tratamento (chegando a tomar 1.75 g. de medicamento), as lesões restantes não se modificaram. Dois pacientes tratados ao mesmo tempo e portadores de lesões semelhantes ficaram curados com 1,20 g. Com a parada das injeções, as lesões evoluiram apresentando riqueza de treponemas. Em 8-4-44 iniciamos as injeções de 4-4

horas, obtendo-se bacterioscopia negativa desde a 19ª. injeção. Sendo um caso que tinha resistido ao arsênico, prolongámos o tratamento até a 73ª. injeção.

Caso 7 — N. S., preto, 38 anos, residente à Av. Epitácio Pessoa e procedente de Sta. Teresa (E. do Rio). Doente há 8 meses. R. W. positiva (++++) e R. K. positiva (++++). R. de Wassermann no liquor, negativa. Apresentava um total de 65 framboesomas localizadas na cabeça, axilas, anus e perineo. As fossas nasais estavam lesadas até a altura dos cornetos. Presença de treponemas abundantes em várias lesões, inclusive nas do nariz e ânus. Referia ter tomado 15 injeções de 914 no Hospital S. Francisco de Assis e 10 injeções de bismuto no Hospital Miguel Couto não tendo melhorado de suas lesões e tendo mesmo aparecido outras além das primitivas do nariz e ânus. Em 20-4-44 iniciou o tratamento com penicilina injetada de 4 em 4 horas, obtendo-se bacterioscopia negativa desde a 84ª. injeção. Sendo um caso arseno-resistente (provavel) o tratamento continuou até 15-5-44. Total de injeções: 150.

O tratamento resumiu-se nas injeções de penicilina, não sendo ministrado nenhum outro. Em três casos foi feita a aplicação tópica desta substância, já quase no termino do tratamento. Para isto foi usada "penicilina bruta". Pelo que foi dado observar, pensamos que esta prática auxilia a cicatrização das lesões. Para as injeções foram empregadas, em média de cada vez, 200 unidades Oxford. A via usada foi a muscular de preferência na região glutea com intervalos de 4 em 4 ou de 6 em 6 horas, e a dose total de unidades para cada doente variou de 9.600 a 52.000 unidades Oxford. Para êste cômputo, a quantidade de "penicilina bruta" empregada não tem significação, de vêz que as ampolas contêm apenas 6 a 8 unidades por c3.

As injeções não parecem dolorosas, dado o comportamento dos pacientes, na sua maioria crianças. Por outro lado, foi boa a absorção da substância, uma vêz que não houve formação de nódulos nos pontos injetados, e isto nada obstante a freqüência e o número elevado das injeções.

A cura clínica e bacteriológica processou-se entre 12 e 44 dias, havendo 2 casos de recidiva, em úlceras podais recém-cicatrizadas (uma em cada caso). A cicatrização das lesões não se deu ao mesmo tempo. Em geral as mais antigas e também as maiores, fechavam mais tardiamente, parecendo que, as lesões primárias e secundárias curam mais ràpidamente que outras mais avançadas, atribuíveis ao terciarismo boubático.

O contrôle bacterioscópico foi praticado diàriamente até a cicatrização, e o imunológico antes e depois do tratamento. Presentemente, as reações sorológicas prosseguem de 8 em 8 dias. Durante o tratamento, a colheita de material para exame foi feito sempre das lesões mais propícias, passando-se

de um pianoma para outro à medida que cicatrizavam. Os exames bacterioscópicos foram feitos em campo-escuro e em preparados impregnados pela prata (Método de Fontana-Tribondeau).

A ação terapêutica parece mostra-se mais eficiente quando a substância é ministrada com menor espaço de tempo entre as injeções e, possìvelmente, a duração do tratamento, é também condicionada pelo número de lesões e não exclusivamente pelo tipo das mesmas.

Logo nos primeiros dias de tratamento, foram observadas melhoras também nos sintomas subjetivos (cefaléia, dôres esteocopas, etc.), que em pouco tempo desaparecem. Êste fato foi particularmente notável no observado do caso 7.

Pelo que foi dado observar, a cura imunológica não acompanha imediatamente a cura clínica e bacteriológica, o que, aliás, freqüentemente acontece também no tratamento pelos arsenicais. Somente 60 dias depois da última injeção as reações imunológicas em todos os casos se mostravam negativas. Por outro lado, a própria cura bacteriológica não parece estar assegurada após a negatividade dos exames microscópicos, como se deduz da recidiva de lesões aparentemente curadas. Todos êstes fatos, mostram a necessidade de prolongar o tratamento por mais algum tempo, mesmo com exames bacterioscópicos negativos e estando as lesões cicatrizadas, a fim de solidificar a cura, que talvez só venha a ser garantida pela negatividade das reações imunológicas em série.

Os acessos maláricos em dois pacientes no transcurso do tratamento, mostraram que a penicilina não parece ter ação sôbre os plasmódios. Por outro lado, o auxílio provavel que a febre poderia ter dado à cura, não deve ter significação, porquanto no foco da treponemose, os pacientes eram também vítimas de frequentes acessos paludicos e, apesar disso, suas lesões boubáticas persistiram e evoluiram meses a fio.

Finalmente, merecem especial destaque, os resultados satisfatórios obtidos com doses relativamente pequenas de penicilina, uma vêz que em trabalho conhecido sôbre o tratamento da sífilis — moléstia de etiologia afim a da bouba — com esta mesma substância, (*) foram usadas doses 23 a 125 vêzes maiores do que às aqui empregadas. Mesmo, no caso das crianças, calculando-se esta doses para o pêso de um adulto (60 quilos), a diferença ainda é notavel. De passagem, queremos referir que também na lues estamos obtendo resultados animadores, que serão relatados proximamente. Com apoio nos resultados das experiências que vimos realizando, na bouba e na sífilis achamos possível que, futuramente, quando fôrem removidas dificulda-

(*) Mahoney, J. F., Arnold, R. C. & Harris, Ad — Penicillin Treatment of Early Syphilis. A Preliminary Report. Am. Jl. of Pub. Health and The Nation's Health. Vol. 33. Num. 12, December, 1943.

des de ordem técnica e econômica para o preparo da penicilina, esta substância venha a constituir boa terapêutica para estas doenças, pelo menos em algumas de suas manifestações, tanto mais quanto, sua ação parece se fazer sentir mesmo em casos de arseno-resistência, alem de ser atóxica.

Para a bouba, principalmente, não precisa ser encarecida a importancia profilatica dos resultados obtidos.

O quadro 1 apresenta em conjunto, diferentes dados sôbre o tratamento, com as observações realizadas antes e depois do mesmo, e as estampas mostram as lesões antes e depois da ação da penicilina.

Agradecimento. Somos gratos ao Diretor de Saúde Pública do Estado do Rio de Janeiro, Dr. Adelmo Mendonça, ao Chefe do Departamento de Propaganda Sanitária da mesma Diretoria, Dr. Leal Ferreira e ao Chefe do Centro de Saúde de Rio Bonito, Dr. Otávio Soares, pelo auxílio prestado na localização e remoção dos dentes de Rio Bonito.

Nota: Estando ainda no prelo êste fascículo, tendo-se obtido resultados mais completos, principalmente nos exames sorológicos, tivemos tempo de acrescentar esses dados ao trabalho, dando-lhe forma mais definitiva.

Embora não de um modo absoluto, comparando-se o número de unidades de penicilina aplicadas em cada paciente, com as reações sorológicas depois do tratamento, verifica-se que, quanto menor foi a dose empregada, por mais tempo perdurou a positividade dessas reações.

Manguinhos, 27 de Maio de 1944.

RESUMO

Nesta nota-prévia, são referidos os primeiros resultados obtidos no tratamento de 7 doentes de bouba (*framboesia, pian, yaws*). Obteve-se a cura clínica e bacterioscópica de todos os casos entre 12 e 44 dias. 60 dias depois do tratamento, as reações sorológicas se mostravam negativas em todos os casos, Os doentes continuarão em observação nos próximos 6 meses, com contrôles imunológicos semanais. O tratamento consistiu em injeções de penicilina de 4 em 4 ou de 6 em 6 horas, empregando-se em média 200 unidades Oxford de cada vez. A dose total de unidades para cada doente variou entre 9.600 a 52.000. Apesar da frequência e do número elevado das injeções, não foi observada nenhuma manifestação tóxica.

SUMMARY

The first results of treatment of yaws by Penicillin are here reported.

In seven patients a complete disappearence of the external lesions was obtained between the 12th and the 44th day of treatment, and serological reactions were negative in the 60th day in all cases. The observations of the patients will be continued for six months, under immunologic controls each 8 days.

The treatment has been performed, using a mean dosis of 200 Oxford units each 4 or 6 hours. The total amount of units "per" subject, has varied from 9.600 to 52.000.

No toxic phenomena due to the drug have been observed, in spite of the frequency and the high number of injections.

ESTAMPA 1

Caso 1 — G. B. Lesões apresentadas pela paciente antes do tratamento. Note-se no pé o framboesoma primário (*mamam-pian, master yaw, bouba mãe*), com aspecto clínico característico da bouba.

Originais de F. Nery Guimarães. Fotos de J. Fontes.

Da Cunha, Leão, Guimarães & Cardoso: — Ensaios terapêuticos com pinicilina. I — Bouba **(Frombœsia, Pian, Yaws)**

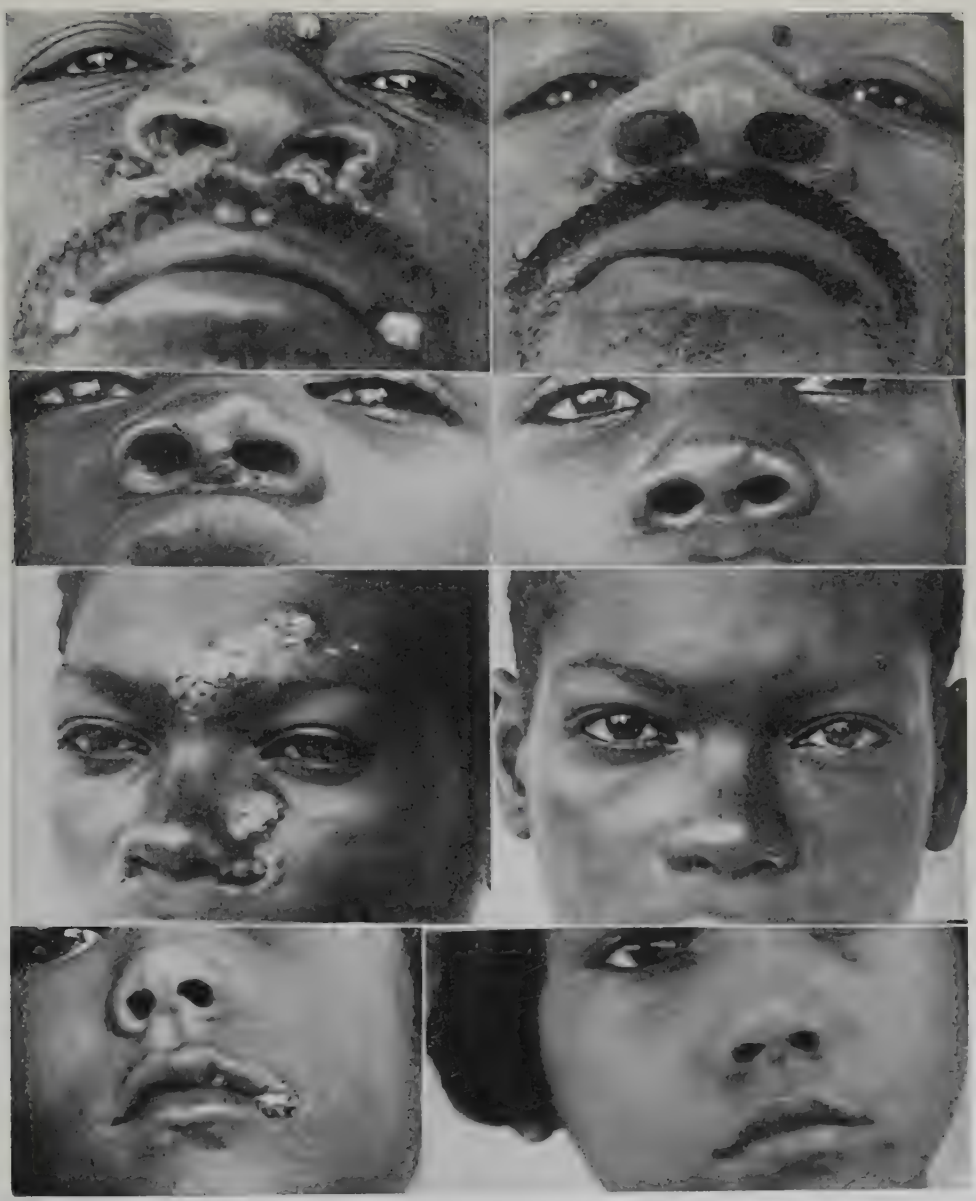
ESTAMPA 2

Caso 1 — G. B. Depois do tratamento. São visíveis as cicatrizes das lesões boubáticas, que, no natural, se apresentam avermelhadas.
Fotos de Miguel Cesar.

Da Cunha, Leão, Guimarães & Cardoso: — Ensaios terapêuticos com pinicilina. I — Bouba **(Frombœsia, Pian, Yaws)**

ESTAMPA 3

Fotos tomados antes e depois do tratamento de 4 pacientes. De baixo para cima : caso 6, Cecilia; Arseno-resistente; lesão da comissura labial; caso 1, L. A. C., framboesomas ulceradas do rosto; caso 4, J. A. C., lesões das fossas nasais, encerrando abundantes treponemas; e caso 7, N. S., mostrando framboesomas no rosto, ao lado de avançadas lesões das fossas nasais atingindo os cornetos, e contendo abundantes treponemas. Originais de F. Nery Guimarães. Fotos de J. Fontes e Miguel Cesar.



Da Cunha, Leão, Guimarães & Cardoso: — Ensaios terapêuticos com pinicilina. I — Bouba **(Frombœsia, Pian, Yaws)**

ESTAMPA 4

Fotos tomados antes e depois do tratamento de 2 pacientes. Em cima : caso 1, L. A. C.: cravos plantares (*crabs yaws*), queratose, despigmentação e descamação da epiderme; caso 4, J. A. C.: cravos plantares (também ricos em treponemas), queratose, despigmentação e descamação da epiderme. Originais de F. Nery Guimarães. Fotos de Miguel Cesar e J. Fontes.

Da Cunha, Leão, Guimarães & Cardoso: — Ensaios terapêuticos com pinicilina. I — Bouba (**Frombœsia, Pian, Yaws**)

QUADRO I TRATAMENTO DA BOU

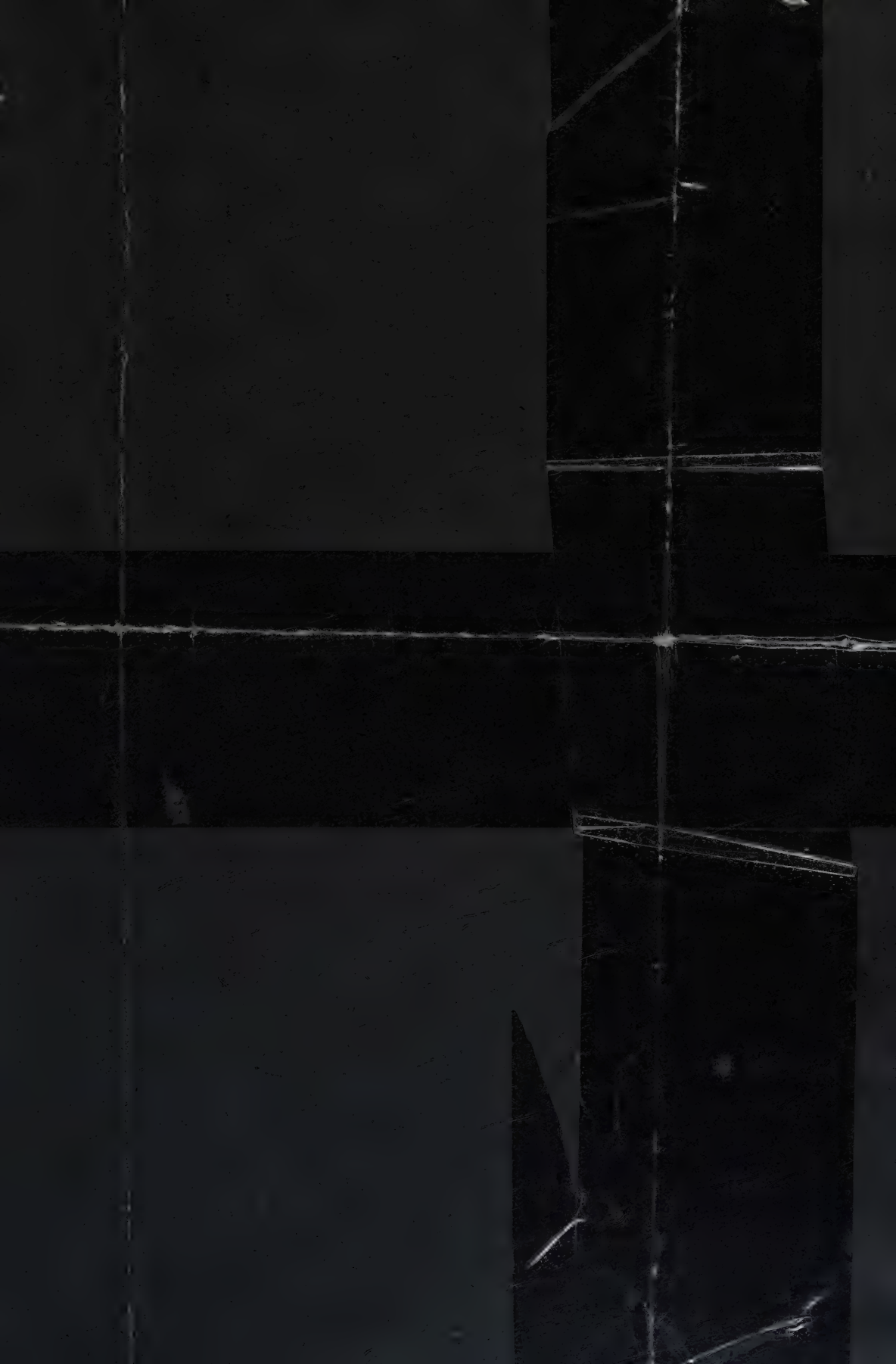
HOSPITAL EVANDRO CH

CASOS	ANTES DO TRATAMENTO				TRATAMENT			
	R. W.	R. K.	Pesquiza de treponemas	N.º de lesões	Início	Intervalo das injeções	N.º de injeções	T d O
Caso 1 : L. A. C., 17 anos.	Positiva (++++)	Positiva (++++)	Positiva	24	15–3–44	6/6 horas	157	31
Caso 2 : O. B., 13 anos	Positiva (++++)	Positiva (++++)	Positiva	15	15–3–44	6/6 horas	56	11
Caso 3 : M. C., 4 anos.	Positiva (++++)	Positiva (++++)	Positiva	8	15–3–44	6/6 horas	48	9
Caso 4 : J. A. C., 16 anos.	Positiva (++++)	Positiva (++++)	Positiva	12	27–3–44	4/4 horas	133	26
Caso 5 : G. B., 4 anos	Positiva (++++)	Positiva (++++)	Positiva	106	27–3–44	4/4 horas	260	52
Caso 6 : Cceilia, 6 anos. Arseno, resistente.	Positiva (++++)	Positiva (++++)	Positiva	5	8–4–44	4/4 horas	73	14
Caso 7 : N. S. 38 anos. Arseno, resistente. (?)	Positiva (++++)	Positiva (++++)	Positiva	65	20–4–44	4/4 horas	150	30

ıA PELA PENICILINA

IAGAS

)		DEPOIS DO TRATAMENTO			
otal ; U. ;ford	Término	Reação de Wassermann	Reação de Kahn	Pesquiza de treponemas	N.º de lesões
.400	1-5-44	Em 2–5. pos.(++++) Em 8–5. pos.(+++) Em 15–5. Pos. (++) Em 22–5. Negativa	Em 1-5. Pos.(++++) Em 8-5. Pos.(++++) Em 15-5. Pos. (++) Em 22–5. Negativa	Negativa	0
.200	29-3-44	Em 20–4. Pos.(++++) Em 1–5. Pos.(++++) Em 8–5. Pos.(++++) Em 15–5. Pos.(++) Em 22–5 Negativa	Em 17-4. Pos.(++++) Em 1-5. Pos.(++++) Em 8–5. Pos.(++++) Em 15–5. Negativa Em 22–5. Negativa	Negativa	0
.600	27–3–44	Em 20-4. Pos.(++++) Em 1-5. Pos.(++++) Em 8-5. Pos.(++++) Em 15–5. Pos.(++++) Em 22–5. Pos.(+++) Em 27–5 Negativa	Em 17-4. Pos.(++++) Em 1-5. Pos.(++++) Em 8-5. Pos.(++++) Em 15–5. Pos.(++++) Em 22–5. Pos.(++) Em 27–5 Negativa	Negativa	0
.600	6–5–44	Em 1-5. Pos.(+++) Em 8-5. Pos.(++) Em 15–5. Pos.(++++) Em 22–5. Negativa	Em 1-5. Pos.(++++) Em 8-5. Pos.(++++) Em 15–5. Pos.(++) Em 22–5 Negativa	Negativa	0
.000	11–5–44	Em 8-5. Pos.(++++) Em 15–5. Pos.(++++) Em 22–5. Negativa	Em 8-5. Pos.(++++) Em 15–5. Pos.(++++) Em 22–5. Negativa	Negativa	0
.600	20–4–44	Em 20-4. Pos.(++++) Em 1-5. Pos.(++++) Em 8-5. Pos.(++++) Em 15–5. Pos.(++++) Em 22–5 Pos.(++) Em 27–5 Negativa	Em 1-5. Pos.(++++) Em 8-5. Pos.(++++) Em 15–5. Pos.(++++) Em 22–5. Negativa Em 27–5 Negativa	Negativa	0
).000	15–5–44	Em 8-5. Pos.(++++) Em 15–5. Pos.(+++) Em 22–5. Negativa	Em 8-5. Pos.(++++) Em 15–5. Pos.(++) Em 22–5 Negativa	Negativa	0



Sôbre a validade do Australorbis centimetralis (Lutz, 1918) (*)

(*Nota prévia*)

por

Geth Jansen

(Com 18 figuras no texto)

Designado para trabalhar em pesquisas relacionadas com os hospedadores intermediários do *Schistosoma mansoni* em nosso país e como fruto de um inquérito que realizámos e cujos resultados publicamos em 1943, tivemos atenção despertada para a tese de Vianna Martins onde várias espécies do gênero *Australorbis* Pilsbry, 1934 foram identificadas sob a rubrica de *A. glabratus*. (Say, 1818).

Como nossas observações no campo nos davam impressão contrária, pelo menos no que se referia a algumas das espécies em causa, resolvemos procurar, em vista da falta de caracteres morfológicos flagrantes usados na caracterização dêstes animais, alguns elementos que pudessem confirmar ou não o conceito acima citado.

Do Dr. A. Marques da Cunha, chefe da Divisão de Estudos de Grandes Endemias, cuja orientação agradecemos, tivemos a satisfação de merecer a animação constante, que se traduziu nesta pequena nota inicial, onde visamos simplesmente focalizar algumas diferenças observadas por nós em criação em laboratório de moluscos do gênero *Australorbis*.

O material de que dispúnhamos era o restante dos moluscos empregados em experiências, que então realizamos, sôbre a influência da cal extinta e do sulfato de cobre nêsses animais e constava de 4 exemplares adultos de *A. olivaceus* (Spix, 1837) colhidos na chácara de Manguinhos e provenientes de semeaduras feitas há muitos anos por Lutz, de moluscos que havia trazido da Bahia (informação do Sr. Joaquim Venancio, seu dedicado auxiliar). De Pernambuco trouxemos, região de Palmares e Catende, topotipo de Lutz para *Planorbis centimetralis* Lutz, 1918, numerosos exemplares desta provável espécie.

Tanto os exemplares que chamamos *centimetralis* quanto os de denominamos *olivaceus*, foram criados em laboratório em identicas condições, em

recipientes semelhantes (cristalizadores altos) de igual capacidade, com areia no fundo, com água da torneira e da mesma procedência, aos quais forneciamos ainda alimentação idêntica (folhas de alface) (fig. 1).

Com pouco mais de 15 dias as desovas já eram numerosas e constituidas por um certo número de ovos depositados na mesma ocasião pelo molusco, que se envolviam por certa mucosidade que os retinham reunidos e presos, em geral, à parede do cristalizador; a mucosidade, secretada pelo próprio molusco, se tornava resistente em contato com a água por ocasião da postura e constituia um verdadeiro envoltório protetor para os ovos emitidos e à êste conjunto assim isolado chamamos *desova*.

Figura 1

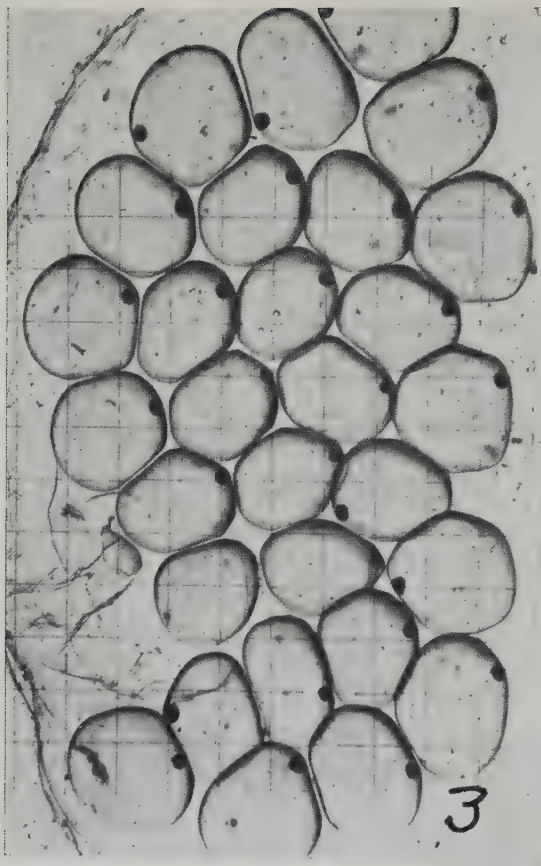
Continuamos a manter as criações já na 4.ª geração e pudemos fazer um certo número de observações que nos levam a considerar os moluscos estudados como pertencentes a duas espécies diferentes que, aliás, foram assim consideradas inicialmente, sob os nomes de *Planorbis olivaceus*, Spix, 1837 e *Planorbis centimetralis* Lutz, 1918. (fig. 2)

Ainda em Pernambuco, nos municípios de Palmares e Catende, onde encontramos sómente *A. centimetralis*, verificamos que êsses moluscos existiam sempre no fundo dos rios, enquanto que os *olivaceus* colhidos em Manguinhos ocorriam sempre na superfície das coleções dágua, agarrados às plantas aquáticas.

Para melhor objetivar as diferenças que achamos de interêsse acentuar entre as espécies *centimentralis* e *olivaceus* elaboramos o quadro abaixo que, com as figuras adicionadas, serve para dar uma idéia inicial do nosso ponto de vista.

Figura 2

	centimetralis	*olivaceus*
Dimensões dos moluscos adulto (fig. 2) ..	Menores cêrca de 1 cm.	Maior cêrca de 2 cm.
Tempo de incubação	Menor cêrca de 3 semanas	Maior cêrca de 5 semanas
N.º de ovos em cada desova (média tomada em 50 desovas)	12	45
Dimensões dos ovos (figs. 3-10) e das desovas (figs. 11-18)	Menores cêrca de 0,7 mm.	Maiores cêrca de 0,9 mm.
Côr dos ovos	Amarelo-esmaecido	Ambar



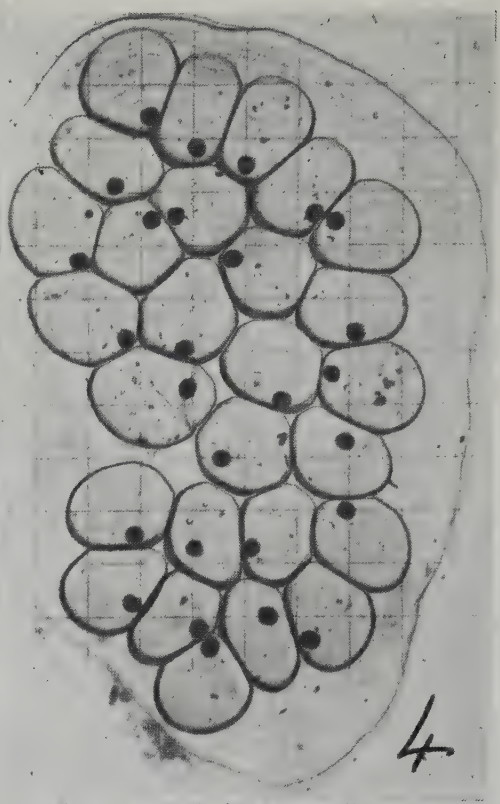
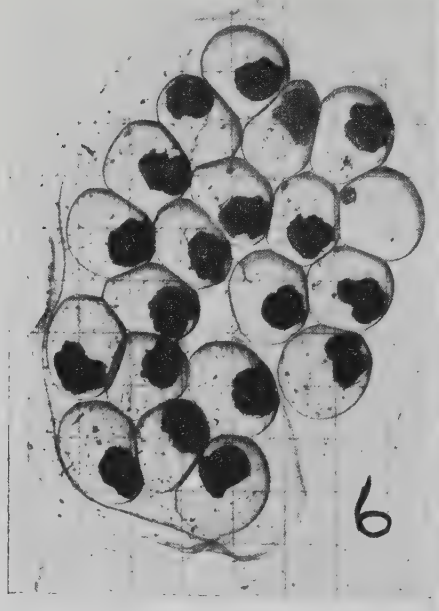


Fig. 3 — Desova de *Australorbis olivaceus*
Fig. 4 — Desova de *A. centimetralis*



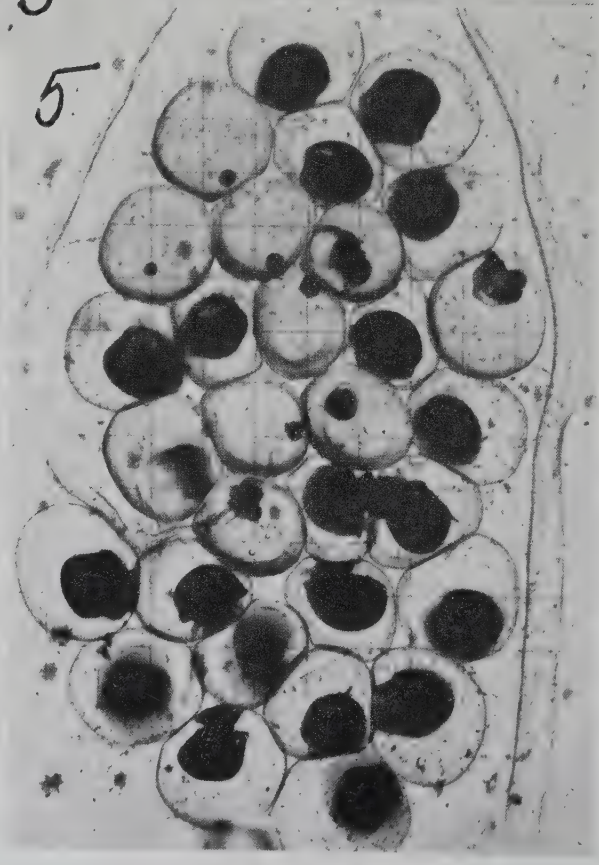


Fig. 5 — Desova de *A. olivaceus*
Fig. 6 — Desova de *A. centimetralis*

Tivemos a preocupação de apresentar fotografias, que estão na mesma escala para facilitar a comparação, de desovas em estádios diferentes de sua evolução. Em tôdas elas existem as mesmas diferenças assinaladas no quadro acima.

Todos os detalhes assinalados são absolutamente constantes e confirmados sem qualquer modificação, já em 4 gerações consecutivas.

Naturalmente, esta nota é a divulgação de um ponto de vista que advogamos, mas é nossa intenção voltar ao assunto em próxima oportunidade.

Este trabalho foi executado na Divisão de Estudos das Grandes Endemias, do Instituto Osvaldo Cruz.

As fotografias que ilustram a presente nota são da autoria do Sr. Miguel Cezar, a quem agradecemos a colaboração.

Manguinhos, 30 de abril de 1944.

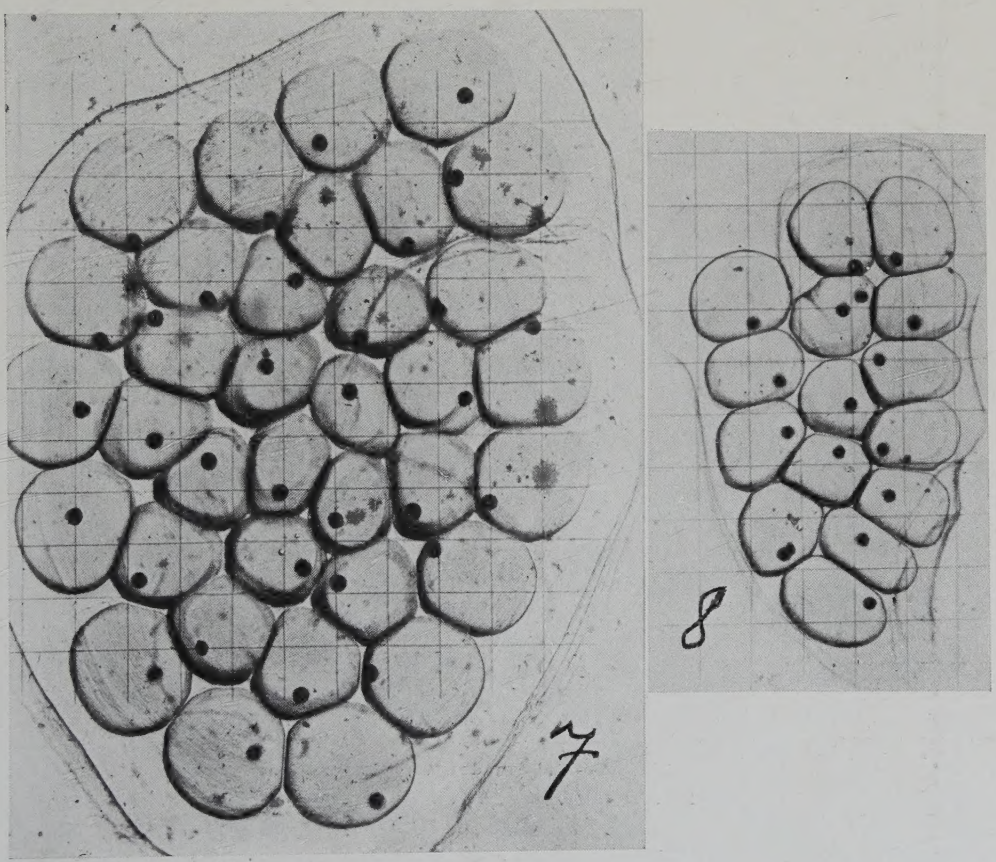
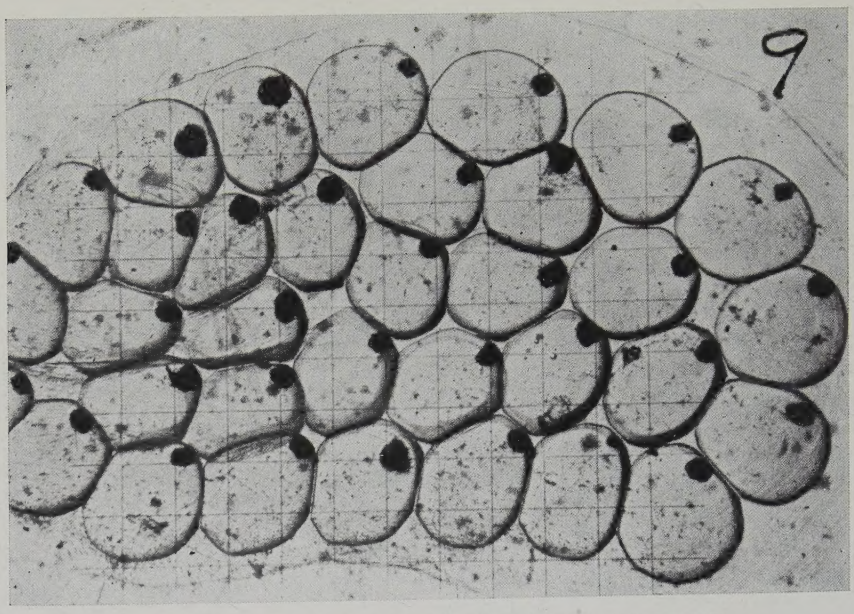


Fig. 7 — Desova de *A. olivaceus*
Fig. 8 — Desova de *A. centimetralis*



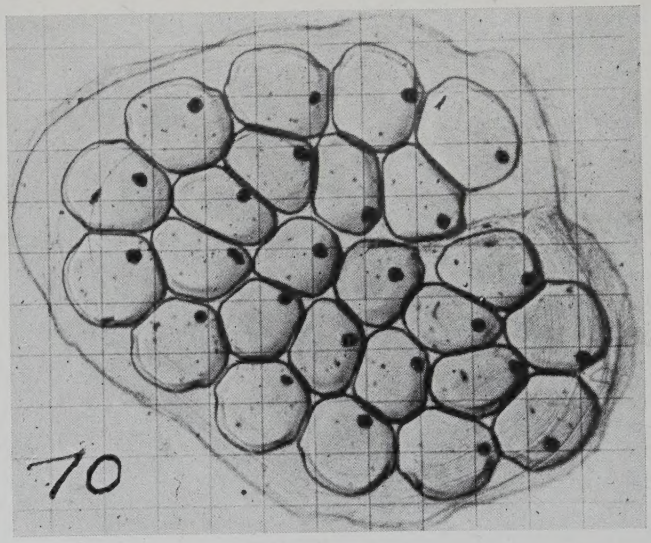


Fig. 9 — Desova de *A. olivaceus*
Fig. 10 — Desova de *A. centrimetralis*

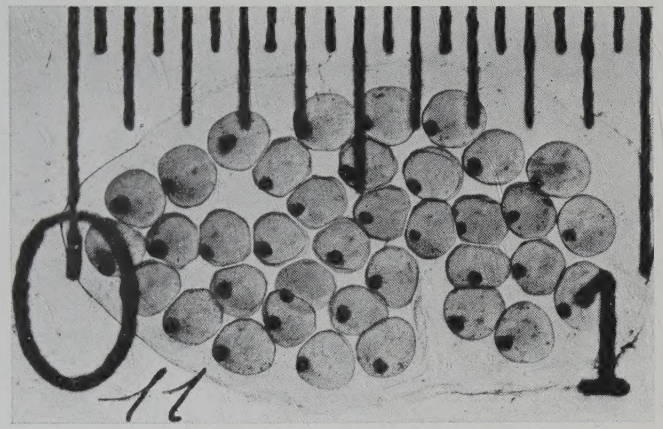


Fig. 11 — Desova de *Australorbis olivaceus*

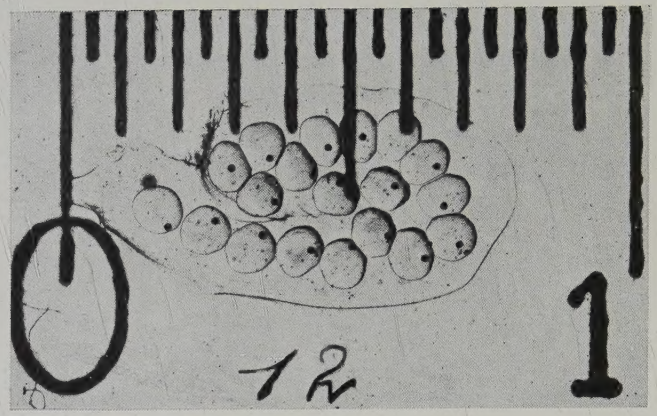


Fig. 12 — Desova de *A. centimetralis*

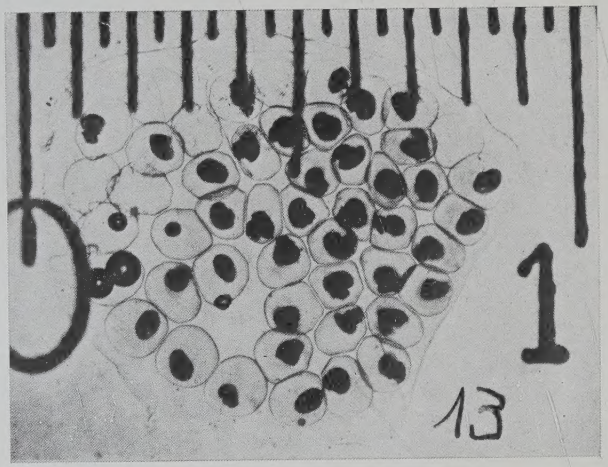


Fig. 13 — Desova de *A. olivaceus*

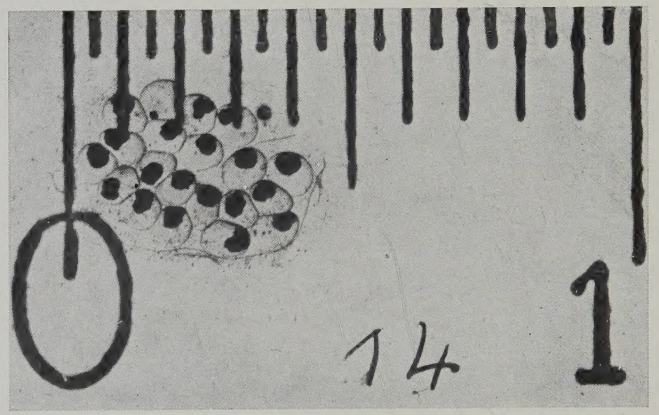


Fig. 14 — Desova de *A. centimetralis*

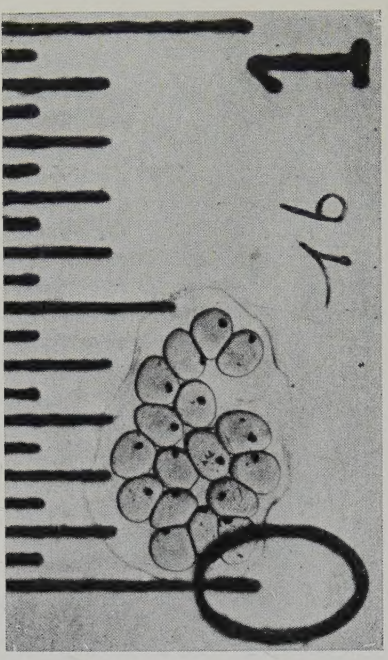


Fig. 16 — Desova de *A. centimetralis*

Fig. 18 — Desova de *A. centimetralis*

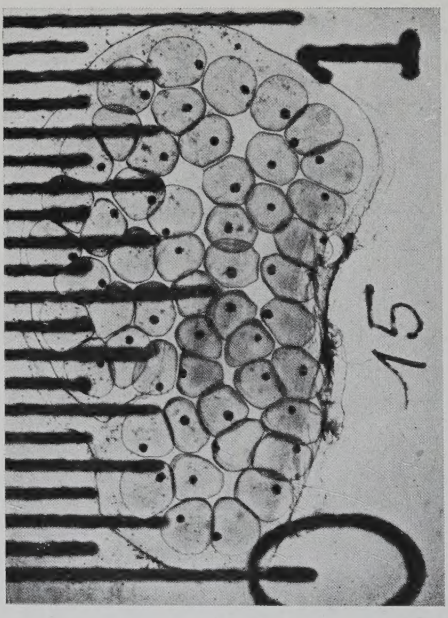


Fig. 15 — Desova de *Australorbis olivaceus*

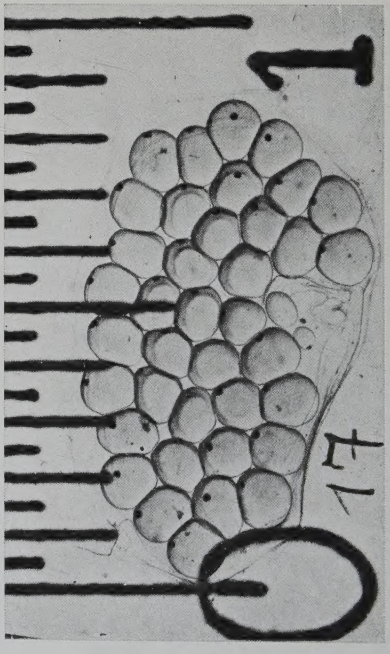


Fig. 17 — Desova de *A. olivaceus*